

SÉRIE A, N° 4374

N° D'ORDRE :

5224

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

M^{me} NICOLE LE DOUARIN

1^{re} THÈSE. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ORGANOGENÈSE DU TUBE
DIGESTIF ET DU FOIE CHEZ L'EMBRYON DE POULET.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 4 novembre 1964 devant la Commission d'examen.

MM. GRASSÉ.....	<i>Président.</i>
GALLIEN	} <i>Examineurs.</i>
WOLFF	

PARIS

Éditions du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

—
1965

SÉRIE A, N° 4374

N° D'ORDRE :

5224

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

M^{me} NICOLE LE DOUARIN

1^{re} THÈSE. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ORGANOGENÈSE DU TUBE
DIGESTIF ET DU FOIE CHEZ L'EMBRYON DE POULET.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 4 novembre 1964 devant la Commission d'examen.

MM. GRASSÉ.....	<i>Président.</i>
GALLIEN	} <i>Examineurs.</i>
WOLFF	

PARIS

Éditions du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

—
1965

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen M. ZAMANSKY.

PROFESSEURS

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	AMIEL	T	Chimie générale.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.	HOCART	T	Minéralogie et Cristallographie.
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.	J.-P. MATHIEU ...	T	Physique (Optique).
PRÉVOST	T	Chimie organique.	COUTEAUX	T	Cytologie.
WYART	T	Minéralogie et Cristallographie.	MAY	T	Zoologie (Orsay).
TEISSIER	T	Zoologie.	CHOQUET	T	Théorie des fonctions et Topologie.
MANGENOT	T	Biologie végétale (Orsay).	FELDMANN	T	Biologie végét. marine.
P. AUGER	T	Physique quantique et Relativité.	GUINIER	T	Physique des solides (Orsay).
MONNIER	T	Physiologie générale.	JOST	T	Physiologie comparée.
PIVETEAU	T	Paléontologie.	FORTET	T	Calcul des Probabilités et Physique mathém.
ROCARD	T	Physique (E.N.S.).	SCHWARTZ	T	Calcul différentiel et intégral.
H. CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.).	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
LAFITTE	T	Chimie générale.	MALAVARD	T	Aviation (Techn. Aéronautique).
FAVARD	T	Géométrie supérieure.	BRELOT	T	Calcul diff. et intégral.
COULOMB	T	Physique du Globe.	NORMANT	T	Synthèse organique.
M ^{lle} COUSIN	T	Biologie animale (S.P.C.N.).	BÉNARD	T	Chimie minérale.
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.	BUYAT	T	Botanique (E.N.S.).
P. DRACH	T	Zoologie.	DUGUÉ	T	Statistiques mathématiques.
KASTLER	T	Physique (E.N.S.).	SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
EPHROSSI	T	Génétique.	ULRICH	T	Physiologie végétale appliquée.
RIVIÈRE	T	Géologie S.P.C.N. et sédim. (Orsay).	MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
GAUTHIERET	T	Biologie vég. (P.C.B.).	KIHMANN	T	Théories chimiques.
R. LUCAS	T	Recherches physiques.	CHADEFAUD	T	Botanique.
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire.	M ^{lle} LE BRETON ..	T	Physiologie de la Nutrit.
ARNULF	T	Optique appliquée.	SALEM	T	Mathématiques générales.
MAX MORAND	T	Physique. Enseignement.	LELONG	T	Applic. de l'analyse à la Géométrie.
SOLFELLET	T	Physique (P.C.B.).	DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie comparées.
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides.	EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
PETIT	T	Biologie maritime.	FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.).
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.	GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie.
GALLIEN	T	Embryologie.	GODEMENT	T	Mathémat. (M.P.C.).
EICHORN	T	Botanique.	PISOT	T	Tech. mathém. de la Physique.
DE CUGNAC	T	Biologie végétale (S.P.C.N.).	E. ROCH	T	Géologie.
M ^{lle} CAUCHOIS	T	Chimie physique.	SCHATZMANN	T	Astrophysique.
THELLIER	T	Physique du Globe.	TERMIER	T	Géologie générale.
L'HÉRTIER	T	Biologie générale (Orsay).	ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
CHIVET	T	Radioélectricité (Orsay).	LENNUIER	T	Physique (M.G.P.).
PONCIN	T	Mécanique générale.	RIZÉY	T	Génétique (Orsay).
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.	ROUTHIER	T	Géologie appliquée.
QUELET	T	Chimie organique.	M ^{me} TONNELAT	T	Physique théorique.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.	DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.).
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.	SOUCRAY	T	Chimie générale.
CUVILLIER	T	Micropaléontologie.	AIGRAIN	T	Electrotechn. générale.
JUNG	T	Géologie.	BRUSSET	T	Chimie systématique.
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.	M. LEVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay).
WIEMANN	T	Chimie org. et structurale.	M ^{me} CHAIX	T	Chimie biologique.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste (Orsay).	M ^{me} HUREL-PY ...	T	Biologie végétale (P.C.B.).
VASSY	T	Physique de l'atmosphère.	PIAUX	T	Chimie (M.P.C.).
DESTOUCHES	T	Théories physiques.	BRUN	T	Mécan. théorique des Fluides.

PROFESSEURS (suite)

LEDERER	T	Chimie biologique (Orsay).	M ^{me} COUTURE	T	Thermodynamique et Méc. physique.
M ^{me} DUBREIL	T	Mathématiques (Agrég.).	ELLENBERGER	T	Géologie des grandes régions du globe.
M ^{me} DELONG	T	Mathématiques II (E.N.S.).	FRANC	T	Biologie animale (P.C.B.).
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.).	SCHNELL		Botanique tropicale.
COTTE	T	Physique électricité.	STOLKOWSKI		Physiologie générale.
J. E. DUBOIS	T	Chimie organique.	ACHER		Chimie biologique.
LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.).	BAUDOU		Biologie anim. (P.C.B.).
André MICHEL	T	Chimie minérale (Orsay).	BEAUMONT		Biolog. anim. (S.P.C.N.).
OLMER	T	Energétique générale.	BLAMONT	T	Géophysique Ionosphère.
ROUAULT	T	Electricité (Orsay).	BOURREAU	T	Botanique.
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.	D. CURIE		Physique (M.G.P.).
BARCHWITZ	T	Chimie physique.	DURAND-DEIGA	T	Géologie.
BROSSEL	T	Physique atomique.	FRÉON	T	Chimie organique (Orsay).
BUSER	T	Physiologie comparée.			
CAMUS	T	Physiologie vég. (Orsay).	HELLER	T	Physiologie végétale.
CASTAING	T	Physique II thermod. (Orsay).	TORTRAT	T	Calcul des Probabilités.
CURIEN	T	Minéralogie et cristallographie.	CAILLEUX	T	Géologie (S.P.C.N.).
MOYSE	T	Physiol. vég. (Orsay).	MAGNAN	T	Physique (S.P.C.N.).
NOIROT	T	Évolution des Etres Org.	DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appl. à la Chim. théor. et à la Phys. nucléaire.
PANNETIER	T	Chimie générale.			
POSSOMPS	T	Zoologie.	M ^{lle} FOURCROY	T	Biologie végétale (S.P.C.N.).
PULLMAN	T	Chimie quantique	M ^{me} CHOQUET- BRUHAT	T	Méc. analytique et Méc. céleste.
TEILLAC	T	Phys. nucl. et Radioactivité (Orsay).	M ^{lle} VEIL	T	Physiologie générale.
			LWOFF	T	Microbiologie.
TONNELAT	T	Biologie physico-chimique (Orsay).	SIESTRUNK	T	Mécanique physique et expérimentale.
VILLE	T	Econométrie.	LACOMBE	T	Métallurg. des métaux nucl. (Orsay).
WILLEMART	T	Chimie (P.C.B.).	BROCHARD	T	Physique (P.C.B.) (Orsay).
DODÉ	T	Chimie (Orsay).	CABANNES	T	Mécanique générale.
FREYMANN	T	Recherches physiques.	LESIEUR	T	Mathématiques I (Orsay).
GUINCHET	T	Biol. vég. (S.P.C.N.) (Orsay).	MAZET	T	Mécanique générale (Orsay).
ROLLET	T	Chimie minérale.	CAIRE		Géographie phys. et Géologie dynamique.
M ^{lle} JOSIEN	T	Chimie (S.P.C.N.).	COMOLET	T	Mécanique des Fluides.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et Théorie des groupes.	CORABOEUF	T	Physiologie animale (Orsay).
ARNOULT	T	Électronique (Orsay)			
CHAPELLE	T	Physique I (Orsay).	DELLOUE		Physique de l'Exosphère.
DELANGE	T	Mathématiques I (Orsay).	GORENFIOT		Botanique II (Orsay).
DENY	T	Mathématiques générales (Orsay).	HOUILLOL		Biol. animale (P.C.B.).
GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides.	J. JULLIEN		Chimie (S.P.C.N.) (Orsay).
G. LUCAS	T	Géologie.	MALGRANGE	T	Tech. math. de la Phys. (Orsay).
ALLARD	T	Chimie physique.	OLIVIER		Anthropologie.
BERTHELOT	T	Physique des particules fond (Orsay).	NOZERAN	T	Botanique II (Orsay).
BRICARD	T	Météorologie et phys. de l'Atmosphère.	BLANC-LAPIERRE	T	Physique (E.N.S.) (Orsay).
M ^{me} ALBE-FESSARD	T	Psycho-physiologie.			
FRIEDEL	T	Physique des Solides (Orsay).	CHEVAUGEON	T	Botanique (Orsay).
M. JULIA	T	Études des Moléculaires complexes.	KAHANE	T	Mathématiques (Orsay).
LENDER	T	Biologie animale (S.P.C.N.) (Orsay).	SAMUEL	T	Math. (E.N.S. féminine)
MAGAT	T	Physicochimie des Radioéléments.	KOIRGANOFF	T	Astronomie (Orsay).
M ^{lle} QUINTIN	T	Électrochimie.	THIRY	T	Mécanique céleste.
MONOD	T	Chimie du Métabolisme.	ABELES		Physique (S.P.C.N.).
BENOIT	T	Physiologie animale (Orsay).	AMAT	T	Physique (P.C.B.).
			AUBOIN	T	Géologie.
DE POSSEL	T	Analyse numérique.	M ^{me} BENOIT-GUEU- TAL	T	Physique nucl. et radio-activité (Orsay).
CHARLOT	T	Chimie analytique.	BOUGIS		Biologie marine (Villefranche/Mer).
LEMÉE	T	Écologie vég. (Orsay).	BRUHAT	T	Mathématiques (M.P.C.).
GUÉRIN	T	Chimie (M.P.C.) (Orsay)	BRUNN	T	Géologie historique (Orsay).
M. CHATELET	T	Chimie (P.C.B.).			
JEAN	T	Physique nucléaire (Orsay).	CHABBAL	T	Physique (M.G.P.) (Orsay).
MATTLER	T	Physique (S.P.C.N.).			
BERGERARD	T	Zoologie (Orsay).	DEHEUVELS	T	Mathématique propé.
BERTEIN	T	Électronique (Orsay).	D'ESPAGNAT	T	Physique théorique (Orsay).
BOUSSIÈRES	T	Radiochimie.			

PROFESSEURS (*suite*)

FURON	T	Géologie (S.P.C.N.).	DELCHROIX	T	Physique théorique (Orsay).
M ^{me} GANS	T	Génétique.	GOUDIN		Phys. théor. des hautes énergies (Orsay).
GENEVES	T	Biologie végétale (P.C.B.).	LEHMANN	T	Phys. exp. des hautes énergies (Orsay).
GUILBERT		Physique (C.U.S., Orléans).	NATAF	T	Physique nucléaire et radioactivité (Orsay).
HUPE	T	Pétrographie.	ÉCHALIER		Biologie animale (P.C.B.).
HOLLANDE	T	Biologie générale.	BARRAUD		Physiologie cellulaire.
LIONS	T	Analyse numérique.	LIORÉ		Physiologie végét. (Orsay).
MAITTE	T	Chimie (P.C.B.).	DARS		Géologie struct. et Géol. appliquée.
MEYER		Physique propédeutique.	CAMEFORT	T	Botanique (agrégation).
NICOLAS		Géologie appliquée.	VICHNIEWSKY	T	Mécanique industrielle.
PANIGEL		Biologie générale.	BLAQUIÈRE		Électronique (Orsay).
RAVIER		Pétrographie.	ARNOUS	T	Physique théorique.
ROSEAU	T	Mécanique théor. des fluides.	TATIBOUET		Chimie (C.S.U., Orléans).
ROUBINE	T	Électronique.	MALLIAVIN	T	Mathématique propé. (Orsay).
SILBER	T	Chimie (P.C.B.).	GAUDEMAR		Chimie propé.
UEBERSFELD	T	Électronique.	PÉREZ Y JORBA		Phys. exp. des hautes énergies (Orsay).
YVON	T	Théories physiques.	DAVID	T	Chimie (Agrég., Orsay).
HERVÉ	T	Mathématiques.	BROUSSE	T	Mécanique théorique.
NÉRON	T	Mathémat. (M.P.C.) (Orsay).			
M ^{me} PECKER- WIMEL	T	Astrophysique.			
BALKANSKY		Physique (M.P.C.).			
LE CORRE	T	Électricité.			

Secrétaire Général R. POULLAIN



ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ORGANOGENÈSE DU TUBE DIGESTIF ET DU FOIE CHEZ L'EMBRYON DE POULET

I. — Étude expérimentale de l'organogenèse du tube digestif.

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	544
MATÉRIEL ET MÉTHODES	546
I. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ORGANOGENÈSE DU TUBE DIGESTIF	
HISTORIQUE.	550
CHAPITRE PREMIER. — LOCALISATION DES TERRITOIRES PRÉSUMPTIFS DE L'APPAREIL DIGESTIF CHEZ L'EMBRYON DE 9 A 25 SOMITES	552
A. — Méthode des radiodestructions localisées pratiquées entre un somite déterminé et la région terminale de l'embryon (p. 552).	
1 ^o Irradiation pratiquée en arrière du 2 ^e somite (p. 553) ;	
2 ^o Irradiation pratiquée en arrière du 5 ^e somite (p. 555) ;	
3 ^o Irradiation pratiquée en arrière du 6 ^e ou du 7 ^e somite (p. 556) ;	
4 ^o Irradiation pratiquée en arrière du 8 ^e , du 9 ^e ou du 10 ^e somite (p. 556) ;	
5 ^o Irradiation pratiquée en arrière du 15 ^e somite (p. 557) ;	
6 ^o Irradiation pratiquée en arrière du 23 ^e somite (p. 557).	
B. — Méthode des marques colorées (p. 559).	
1 ^o Marquage de l'endomésoderme médio-dorsal (p. 560) ;	
2 ^o Marquage du repli cardiaque (p. 564) ;	
3 ^o Marquage des régions latérales du blastoderme (p. 565).	
CHAPITRE II. — LES MOUVEMENTS MORPHOGÉNÉTIQUES DANS L'ORGANOGENÈSE DE L'APPAREIL DIGESTIF PRÉ-OMBILICAL.	568
A. — Mise en évidence de ces mouvements par le déplacement de marques de charbon (p. 568).	
B. — Influence de l'inhibition des mouvements morphogénétiques sur l'organogenèse de l'appareil digestif pré-ombilical (p. 570).	
1 ^o Méthode utilisée (p. 570) ;	
2 ^o Résultats (p. 571).	
CONCLUSIONS	574

	Pages
CHAPITRE III. — LA RÉGULATION DE L'ESTOMAC APRÈS DESTRUCTION DE SON TERRITOIRE PRÉSUMPTIF	575
A. — Destruction du territoire présumé de l'estomac (p. 575).	
1 ^o Méthode utilisée (p. 576) ; 2 ^o Résultats (p. 577).	
B. — Territoire assurant la régulation (p. 577).	
1 ^o Marquage médio-dorsal correspondant aux somites 10 à 13 (p. 577) ; 2 ^o Marquage latéro-dorsal correspondant aux somites 10 à 13 (p. 579).	
C. — Limite postérieure du territoire pouvant assurer la régulation de l'estomac (p. 581).	
1 ^o Irradiation de la bande transversale de territoire embryonnaire correspondant aux somites 3 à 12 (p. 580) ; 2 ^o Irradiation de la bande transversale de territoire embryonnaire correspondant aux somites 3 à 15 (p. 581).	
CONCLUSIONS	582

INTRODUCTION

Le développement embryonnaire de l'appareil digestif des Vertébrés supérieurs a fait l'objet d'études descriptives précises à la fin du XIX^e et au début du XX^e siècle, mais n'a suscité depuis cette époque que peu de travaux expérimentaux.

Le travail préliminaire à une étude expérimentale de l'organogenèse consiste à localiser les aires présumptives des organes aux stades précoces du développement.

Ces localisations ont été établies pour de nombreux systèmes et organes chez l'embryon des Vertébrés supérieurs. La carte des ébauches de l'épiblaste a été dressée par plusieurs auteurs sur le blastoderme de Poulet aux premiers stades du développement (WETZEL, 1929 ; GRÄPER, 1929 ; PASTEELS, 1937 ; SPRATT, 1952). En ce qui concerne les dérivés endodermiques, on ne possède de renseignements sur la répartition des territoires présumptifs qu'aux stades pré-somitiques.

HIS (1874) fut le premier à publier un diagramme représentant sur le jeune blastoderme la projection des organes digestifs et respiratoires. Ce diagramme ne reposait pas sur une étude expérimentale, mais fut imaginé par HIS d'après les observations qu'il fit sur le développement normal du tube digestif. Ces observations l'avaient amené à penser que les organes médio-dorsaux proviendraient d'un territoire unique et médian de l'embryon, lorsque ce dernier est disposé à plat sur le jaune, tandis que les organes ventraux comme le foie par exemple seraient formés par la réunion de deux ébauches latérales. Ces conceptions furent vérifiées plus tard. En effet, WILLIER et ses collaborateurs entreprirent, entre les années 1930 et 1936, l'étude de la localisation des territoires présumptifs dans le blastoderme d'Oiseau aux stades pré-somitiques par

une méthode expérimentale. L'évolution de fragments de blastoderme en greffe chorio-allantoïdienne montra que la ségrégation des potentialités histogénétiques s'effectue dans le germe dès un stade très précoce. Une carte des potentialités des différents feuillets a pu être établie à partir de ces recherches aux stades précoces du développement.

Entre les stades de la formation des premiers somites et ceux où s'accomplit l'organogenèse digestive, la localisation des territoires correspondant aux dérivés endodermiques n'est pas connue. Je me suis proposée de l'établir chez des embryons de Poulet de 9 à 25 somites. Les méthodes que j'ai utilisées sont, d'une part celle des radiodestructions localisées qui a permis à WOLFF (1936) de déterminer la position des ébauches des membres chez l'embryon de Poulet et d'autre part, celle des marques colorées. Pendant la période du développement ainsi étudiée il se produit des mouvements morphogénétiques dont j'ai cherché à préciser le rôle dans la formation des organes digestifs.

On sait que dans le cas de nombreux organes des phénomènes de régulation peuvent intervenir lorsqu'on détruit ou qu'on excise certains territoires embryonnaires à des stades suffisamment précoces du développement. Il m'a paru intéressant de chercher si de tels phénomènes de régulation pouvaient être mis en évidence en ce qui concerne le tube digestif.

L'étude expérimentale du développement du foie fait l'objet de la seconde partie de ce mémoire.

L'organogenèse hépatique chez les Vertébrés supérieurs n'a pas été étudiée d'un point de vue expérimental au cours des premiers stades du développement. Certains auteurs, comme LUDWIG (1919), ont pensé, en se basant sur des observations histologiques, que l'ébauche endodermique du foie peut être distinguée de l'endoderme présomptif du tube digestif, longtemps avant que ne débute l'organogenèse hépatique. Toutefois, les mécanismes de la différenciation de cet endoderme n'ont pas été étudiés.

J'ai cherché quels sont les facteurs qui provoquent la détermination de l'endoderme hépatique et quels sont ceux qui permettent son évolution ultérieure en cordons épithéliaux différenciés.

Certains résultats ont fait l'objet de publications préliminaires (N. LE DOUARIN, 1960, 1961 *c*, 1962 *a* et *b*, 1963 *a*, *b* et *c*, 1964 *a* et *b*).

Je tiens à exprimer ici à mon Maître, M. le Professeur Étienne WOLFF, membre de l'Institut, ma profonde gratitude. Alors que j'étais professeur dans un lycée, il m'a accueillie dans son laboratoire et m'a intégrée à l'École d'Embryologie expérimentale qu'il dirige. C'est grâce à lui que ma vocation pour la recherche biologique a pu naître et s'affirmer. Dans le cadre stimulant de son grand laboratoire, j'ai bénéficié de toutes les conditions intellectuelles et matérielles favorables au travail scientifique. Je lui suis particulièrement reconnaissante de l'enseignement, des conseils et des encouragements qu'il m'a prodigués avec générosité et sollicitude. Les multiples idées dont il a enrichi nos fréquents entretiens ainsi que la

rigueur de son jugement ont orienté et guidé mon travail. Je suis heureuse de lui exprimer l'admiration que m'inspirent l'étendue de ses connaissances et ses qualités humaines.

Il m'est agréable de remercier Mme WOLFF pour la bienveillance, la compréhension et l'aide que j'ai toujours rencontrées auprès d'elle.

J'exprime également mes remerciements à mes camarades de travail dont l'esprit d'entraide et de libre discussion m'a souvent été profitable et au personnel technique du laboratoire pour le dévouement dont il a fait preuve à mon égard.

Je remercie M. le Professeur P.-P. GRASSÉ, membre de l'Institut, d'avoir bien voulu accepter la présidence du jury de ma thèse. Qu'il me permette de lui exprimer aussi ma gratitude pour les grandes facilités qu'il m'a procurées pour mener à bien, et dans un délai très court, la publication de ce mémoire. Il m'a toujours réservé un accueil bienveillant et m'a prodigué de précieux conseils.

Je remercie M. le Professeur L. GALLIEN d'avoir accepté de faire partie du jury de ma thèse et de s'être intéressé à mes recherches. J'ai eu avec lui des entretiens fructueux et je lui suis très reconnaissante des encouragements qu'il a bien voulu me donner à différentes étapes de mon travail.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'organogenèse digestive a été étudiée chez l'embryon de Poulet (*Gallus gallus*) de la race Leghorn blanche.

J'ai utilisé au cours de cette étude les méthodes expérimentales suivantes : radio-destructions localisées aux rayons X, utilisation des marques colorées, microchirurgie de l'embryon *in ovo*, dissociation de tissus et culture *in vitro*.

1° RADIODESTRUCTIONS LOCALISÉES

La méthode mise au point par ANCEL et WOLFF (1934) permet de détruire sélectivement par un faisceau de rayons X une partie déterminée de l'embryon. Cette méthode devenue très courante en embryologie expérimentale, a été décrite en détail par WOLFF (1936). Elle m'a permis d'étudier la localisation des territoires présomptifs de l'appareil digestif chez l'embryon de Poulet de 9 à 25 somites.

L'appareil à rayons X qui a été le plus fréquemment utilisé est l'appareil Picker-X rays, à anticathode de tungstène de 3,8 mm², fonctionnant sous une tension de 60 kV et à une intensité de 15 mA. A une distance de 11 cm, le débit à feu nu est de 1.000 r/mn. Pour certaines séries expérimentales, j'ai employé le tube Machlett AEG-50 à anticathode de tungstène de 5 mm² fonctionnant sous une tension de 15 kV et à une intensité de 20 mA. A une distance de 11 cm, le débit est de 1.500 r/mn environ (le débit est calculé avec le localiseur).

Ces deux appareils permettent d'administrer à l'embryon de Poulet de 2 jours, en une irradiation de 10 à 20 minutes, une dose de rayonnement détruisant totalement le territoire irradié.

2° MARQUES COLORÉES

J'ai employé une fine poudre de charbon animal pour marquer les feuilletts embryonnaires, soit *in ovo*, soit *in vitro*.

Trois sortes d'expériences ont été réalisées :

a) *Marquage de l'endo-mésoderme in ovo
chez des embryons de 9 à 25 somites.*

Un petit amas de grains de charbon, unis entre eux par de l'albumine, est inséré dans une fente intéressant les trois feuillets embryonnaires de la région à étudier. La cicatrisation est rapide et les tissus retiennent des grains de charbon. Le développement n'est pas perturbé par cette intervention ; je n'ai jamais observé d'anomalies qui puissent lui être imputables.

b) *Marquage du mésoderme de l'aire cardiaque in ovo
aux jeunes stades du développement.*

J'ai utilisé cette méthode pour marquer le mésoderme de l'aire cardiaque aux stades pré-somitiques et des premiers somites. L'amas de grains de charbon est très petit dans ce cas ; je le place dans le feuillet mésodermique en transperçant l'ectoderme à l'aide d'une fine aiguille de verre. Si le coagulum d'albumine qui réunit les grains de charbon est suffisamment dur, l'ectoderme n'est pas marqué au passage.

Dans ces deux sortes d'expériences, le déplacement des marques peut être suivi *in ovo* pendant les premiers jours qui suivent l'intervention. Les animaux sont sacrifiés entre 4 jours 1/2 et 7 jours, puis examinés, soit par la dissection, soit sur des préparations histologiques.

c) *Marquage de l'endoderme sur l'embryon cultivé in vitro.*

L'embryon, prélevé aux jeunes stades du développement, est cultivé la face dorsale sur le milieu. On dépose les grains de charbon sur les régions endodermiques dont on veut étudier le déplacement. On observe l'embryon à intervalles de temps réguliers à la loupe binoculaire. Des dessins tracés à l'aide d'une chambre claire permettent de suivre l'évolution de la région marquée.

3° MICROCHIRURGIE

J'ai largement utilisé les techniques de microchirurgie au cours de mes recherches, soit dans le but de perturber le cours normal d'un processus embryonnaire déjà mis en évidence par d'autres méthodes, soit pour étudier les relations intertissulaires au cours du développement. Ces techniques permettent en effet de supprimer expérimentalement les rapports normaux entre deux parties d'une ébauche ou de créer des relations anormales entre différents tissus embryonnaires.

a) *Perturbation de mouvements morphogénétiques
par le moyen d'un obstacle mécanique.*

J'ai montré par la méthode des marques colorées que l'aire embryonnaire latérale effectue par rapport à la région médio-dorsale un mouvement de glissement en direction antéro-postérieure. Ce mouvement peut être inhibé à l'aide d'un obstacle constitué par un fragment rectangulaire de membrane coquillière placé dans une fente transversale intéressant les trois feuillets de l'aire embryonnaire latérale (fig. 12 et 13).

Un autre procédé consiste à exciser un fragment de l'aire embryonnaire latérale sur une hauteur de 3 à 4 somites entre l'axe somitique et l'aire opaque (fig. 24 c). La cicatrisation provoque la soudure des trois feuillets au niveau des lèvres de la plaie, le mouvement de glissement des feuillets les uns par rapport aux autres est ainsi inhibé.

b) *Isolement du mésenchyme hépatique par microchirurgie in ovo.*

La méthode des obstacles précédemment décrite, permet de séparer l'aire hépatique présomptive en deux parties antérieure et postérieure. La partie postérieure, isolée de l'ébauche endodermique du foie qui est située en avant de l'obstacle, ne contient que du mésoderme hépatique présomptif. Ce tissu se développe ainsi à l'état pur.

4° DISSOCIATION DE TISSUS EMBRYONNAIRES
PAR ACTION DE LA TRYPSINE

L'isolement de l'endoderme ou du mésoderme de différentes régions embryonnaires est obtenu par le traitement à la trypsine (Moscona, 1952).

Les fragments traités proviennent d'embryons de différents stades, depuis le stade du prolongement céphalique jusqu'à celui de 22 somites. Les tissus sont placés pendant 20 à 30 minutes dans une solution de trypsine, à 0,5 0/00 ou à 1 0/00 selon les cas, dans du liquide de Tyrode sans calcium ni magnésium. Le traitement à la trypsine est administré à froid : les récipients contenant les fragments de blastoderme sont placés sur de la glace pilée. Ce procédé diminue la production de mucus par les cellules et empêche l'enroulement des lambeaux de tissus. L'excès de trypsine est ensuite éliminé par lavage dans un mélange composé de 3 parties de liquide de Tyrode pour une partie de sérum de poulain.

5° ASSOCIATION DE TISSUS EMBRYONNAIRES

Des associations de tissus embryonnaires ont été faites notamment entre l'endoderme présomptif du foie et diverses ébauches mésenchymateuses. Les méthodes utilisées ont été, soit la culture organotypique qui sera décrite ultérieurement, soit la greffe sur l'embryon *in ovo*. Dans ce dernier cas, le greffon est inséré dans une fente pratiquée à travers le tissu auquel on désire l'associer. Il est préalablement marqué par des grains de charbon animal, ce qui permet de le retrouver plus facilement à l'examen histologique. Ce type de greffe établit un contact entre les tissus du greffon et ceux de l'hôte.

6° GREFFES CŒLOMIQUES

La méthode des greffes cœlomiques permet d'éviter que les tissus du greffon ne se soudent à ceux de l'hôte. En effet, le greffon se développe généralement sans liaison tissulaire avec les parois de la cavité cœlomique et n'est réuni aux tissus de l'hôte que par les vaisseaux qui l'irriguent. Les embryons receveurs ont 3 jours 1/2 d'incubation.

Une incision est pratiquée dans la somatopleure en arrière du niveau des artères omphalo-mésentériques, le greffon est introduit dans la cavité cœlomique ; il est assez rapidement irrigué. Cette méthode constitue une sorte de culture *in vivo*.

7° CULTURES *in vitro*a) *Cultures organotypiques.*

Les associations entre l'endoderme présomptif du foie et différentes sortes de mésenchymes ont été réalisées en culture selon la méthode mise au point par WOLFF et HAFEN (1952). Le milieu de culture employé est le milieu « standard » de ces auteurs. Il a la composition suivante :

— Gélose à 1 0/0 dans le liquide de Gey.	7 gouttes
— Liquide de Tyrode ⁽¹⁾	3 gouttes
— Extrait embryonnaire dilué de moitié dans du liquide de Tyrode.	3 gouttes

b) *Cultures de blastodermes.*

J'ai cultivé des blastodermes, prélevés au stade du repli céphalique transverse et des premiers somites, selon la méthode de WOLFF et SIMON (1955). Les blastodermes sont placés sur la face dorsale et des marques de charbon sont disposées sur l'endoderme. Le déplacement de ces marques, observé à intervalles réguliers au cours du développement, fournit des renseignements sur les mouvements morphogénétiques qui affectent l'endoderme.

5° TECHNIQUES HISTOLOGIQUES

Le résultat de certaines séries expérimentales a été étudié à l'aide des techniques histologiques. Le fixateur généralement utilisé est le liquide de Bouin.

Les coupes, de 5 μ d'épaisseur, sont colorées à l'hématoxyline-éosine. Dans quelques cas la coloration en masse de la pièce par l'hémalum de Mayer a été utilisée.

La détection histochimique du glycogène dans les cellules hépatiques par la réaction à l'acide periodique-Schiff est effectuée après fixation au liquide de Gendre.

(¹) On ajoute, à la solution de Tyrode, de la pénicilline G (sel de Na) en solution dans le « Subtosan » Specia à la dose de 10 unités Oxford par milieu de culture.

I. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ORGANOGENÈSE DU TUBE DIGESTIF

HISTORIQUE

Le tube digestif du Poulet peut être subdivisé en trois parties. L'intestin antérieur s'étend jusqu'à l'extrémité de l'anse duodénale. Sa limite postérieure correspond au débouché des voies biliaires et pancréatiques. Il comprend le pharynx, l'œsophage, le jabot, l'estomac (ventricule succenturié et gésier) et l'anse duodénale. A cette partie du tube digestif sont annexés des dérivés glandulaires, le foie et le pancréas.

L'intestin moyen est formé par l'anse grêle et se termine à la naissance des cæca. Il porte en son milieu, pendant la période embryonnaire, le pédicule vitellin.

Enfin, l'intestin postérieur est formé des cæca, du rectum et du cloaque. Il fournit ventralement l'allantoïde.

La formation du tube digestif à partir d'un endoderme qui, à l'origine, est plat, s'effectue en association avec l'élévation et la constriction du corps de l'embryon au-dessus de la surface initiale du blastoderme.

Les données classiques concernant le développement du tube digestif chez le Poulet sont dues en particulier à GOETTE (1867), HIS (1868, 1874), DUVAL (1889), KEIBEL et ABRAHAM (1900), ADELMANN (1922) et BELLAIRS (1953).

La première indication du développement du tube digestif apparaît chez l'embryon, vers la 25^e heure de l'incubation, sous la forme d'un repli endodermique en croissant, convexe en avant et ouvert en arrière sur le jaune. Ce repli endodermique est doublé par une formation identique de l'ectoderme (repli céphalique transverse) située à l'extrémité du prolongement céphalique. La poche endodermique ainsi formée constitue le pharynx embryonnaire ou ébauche de l'intestin antérieur. Le toit du pharynx adhère étroitement à ce stade au mésoderme préchordal, mais le plancher est contigu à l'ectoderme de la tête sans interposition de mésoderme.

Au stade où l'endoderme est plat, il est constitué uniformément d'une mince couche de cellules cubiques. Ensuite des transformations apparaissent, la partie profonde et ventrale du repli possède des cellules endodermiques hautes et cylindriques (DUVAL, 1889; ADELMANN, 1922). Aux stades de la formation des premiers somites, le plancher épaissi du pharynx est prolongé de part et d'autre du prolongement céphalique par deux zones bilatérales où l'endoderme s'épaissit de l'avant vers l'arrière. Ces deux bandes latérales se replient en formant une sorte de gouttière dont les bords se rejoignent médio-ventralement, puis fusionnent (HIS, 1868; DUVAL, 1889; BELLAIRS, 1953). L'endoderme digestif se sépare de l'endoderme vitellin qui constituera le toit de la vésicule vitelline. Ainsi, la poche du pharynx embryonnaire s'allonge d'avant en arrière. Elle atteint la taille de 450 μ au stade de 6 somites (KEIBEL et ABRAHAM, 1900).

En coupe, le pharynx a une forme concave dorsalement. Sa face ventrale est formée de cellules hautes. Sa face dorsale, constituée de cellules aplaties, se décolle du mésoderme choral à partir du stade de 6 à 7 somites.

Les cavités péricardiques et le mésoderme précardiaque s'insinuent dans l'espace compris entre les parois endodermique et ectodermique de l'intestin antérieur, dès le stade de la formation des premiers somites. Au stade de 7 à 8 somites, la cavité péricardique et les deux tubes cardiaques fusionnés sont en position ventrale par rapport à l'intestin antérieur et séparent les replis endodermique et ectodermique (DUVAL, 1889; ADELMANN, 1922). Le bord du repli endodermique constitue la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal.

La partie la plus crâniale de l'intestin antérieur reste étroitement adhérente à l'ectoderme pour former la plaque orale ou membrane pharyngienne dans laquelle se percera l'orifice buccal.

Entre les stades de 7 à 27 somites l'intestin antérieur passe de 560 à 1.000 μ (KEIBEL et ABRAHAM, 1900) et la gouttière digestive atteint le niveau des artères vitellines. La formation de l'intestin antérieur se complète entre les stades de 20 à 25 somites. Le primordium hépatique qui apparaît vers ce stade marque la séparation entre l'intestin antérieur et l'intestin moyen (GOETTE, 1867). Avant la fermeture de l'intestin antérieur, des différenciations, en particulier celle de l'estomac, commencent à s'ébaucher.

La première indication de la formation de l'intestin à l'extrémité caudale du corps apparaît au moment où la fermeture de l'intestin antérieur est complète. Jusqu'au stade de 20 somites on peut voir en arrière de la masse indifférenciée du bourgeon caudal le reste de la ligne primitive (GASSER, 1880 ; GAERTNER, 1949). A ce niveau, il se forme un repli du blastoderme ayant pour effet de surélever le bourgeon caudal. En même temps, un repli endodermique, dont la concavité est dirigée vers l'avant, constitue le primordium de l'allantoïde (DUVAL, 1889 ; ZWILLING, 1946) (*Primärer Hinterdarm* de HIS, 1868). A mesure que le bourgeon caudal s'individualise, il apparaît chez l'embryon de 28 à 29 somites un diverticule endodermique en position dorsale par rapport à l'ébauche de l'allantoïde. Ce diverticule est l'ébauche de l'intestin caudal, formation transitoire qui s'accroît vers l'arrière en même temps que la queue elle-même, puis commence à régresser dès la fin du 3^e jour (HIS, 1868 ; GASSER, 1874 ; DUVAL, 1877 ; GRUENWALD, 1941 ; ZWILLING, 1946). Dans la région de la ligne primitive vestigiale, l'endoderme du diverticule allantoïdien est fusionné à la surface de l'ectoderme pour former la membrane cloacale ou plaque anale (CADIAT, 1878).

Une gouttière endodermique se forme en avant du primordium allantoïdien et l'intestin postérieur commence à s'accroître en direction crâniale. L'ombilic intestinal devient de plus en plus réduit.

Au début du 4^e jour, la limite entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur est indiquée par l'apparition des primordia cœcaux (KEIBEL et ABRAHAM, 1900 ; MAUMUS, 1902 ; KERSTEN, 1912). Pendant la première moitié du 4^e jour, l'ombilic se réduit de 3.000 à 750 μ (KERSTEN, 1912). Au début du 5^e jour l'intestin est complètement formé et la connexion entre le tube digestif et le jaune est établie désormais par le pédicule vitellin.

Les différenciations déjà commencées avant la fermeture complète de l'intestin se poursuivent. L'œsophage et le rectum présentent au cours de leur développement la particularité de perdre leur cavité interne. L'épithélium s'épaissit et obstrue complètement la lumière entre les 6^e et 9^e jours pour l'œsophage (MEURON, 1886 ; FORSSNER, 1907 ; PENZA, 1910 ; SCHUMACHER, 1926 ; TROTTI, 1932 ; ALLENSPACH, 1964), du 6^e au 12^e jour pour le rectum (MINOT, 1900 a ; PAP, 1933).

Les potentialités histogénétiques de l'endoderme ont été étudiées avant le stade de l'organogenèse digestive. La technique utilisée le plus souvent a consisté à isoler d'une part l'endoderme seul ou l'endoderme avec du mésoderme adhérent, d'autre part des fragments de blastoderme comprenant les trois feuillettes et à en étudier le développement en greffes chorio-allantoïdiennes.

Les auteurs ont isolé les feuillettes par arrachement, il en résulte que les tissus prélevés étaient à la fois lésés et mal définis du point de vue embryologique. Il ne sera fait ici qu'un bref rappel des résultats obtenus par cette méthode.

Avant le stade de la ligne primitive définitive, l'endoderme, même lorsqu'il est associé avec du mésoderme, ne semble pas fournir d'histogenèse digestive en greffe chorio-allantoïdienne (WADDINGTON, 1932 ; HUNT, 1934-1937). Au contraire, d'après HUNT le mésoderme de la région de la ligne primitive en fournit, puis perd cette propriété au profit du mésoderme à partir du stade de la ligne primitive définitive et du prolongement céphalique. Selon cet auteur, l'endoderme définitif, capable de fournir des formations digestives, se forme à partir de cellules mésodermiques et même ectodermiques de la région de la ligne primitive. L'endoderme définitif constitué n'est pas capable de se différencier d'une façon autonome avant un stade avancé, son évolution en greffe dépend de la présence du mésoderme (RUDNICK et RAWLES, 1937 ; RUDNICK, 1944-1952).

Par la méthode des greffes chorio-allantoïdiennes de fragments de blastoderme comprenant les trois feuillettes, on a pu déterminer la répartition des potentialités histogénétiques du tube digestif dans le germe à différents stades, depuis le blastoderme non incubé jusqu'à la formation des premiers somites.

La localisation des territoires présomptifs de l'appareil digestif change au cours des premiers stades du développement. BUTLER (1935) obtient des formations digestives principalement à partir de la moitié postérieure du germe non incubé.

Au stade de la ligne primitive, les potentialités à former de l'intestin existent tout au long de la ligne primitive, mais semblent déjà présenter une répartition antéro-postérieure correspondant de façon approximative à la succession des organes digestifs (DALTON, 1935 ; RAWLES, 1936 ; RUDNICK et RAWLES, 1937).

Au stade du prolongement céphalique, les territoires aptes à former les dérivés de l'intestin antérieur s'étendent depuis l'extrémité du prolongement céphalique jusqu'à 0,3 mm environ en arrière du nœud de Hensen (RUDNICK, 1932 ; RAWLES, 1936). En arrière de ce niveau, au stade de la formation des premiers somites, les potentialités à former le rectum et le cloaque apparaissent (DALTON, 1935).

Par une autre méthode d'investigation, celle des marques colorées, BELLAIRS (1953) confirme dans les grandes lignes les données relatives à la localisation des ébauches de l'intestin antérieur fournies par la technique des greffes chorio-allantoïdiennes.

Peu de données existent sur la localisation et l'évolution des territoires présomptifs des organes digestifs à partir des stades jeunes du développement. Je me suis proposé d'établir la localisation de ces territoires chez des embryons de 9 à 25 somites puis d'étudier leur mise en place définitive au cours de l'organogenèse.

Enfin, j'ai étudié le problème de la détermination et de la régulation de certains territoires présomptifs de l'appareil digestif à un stade précis du développement.

CHAPITRE PREMIER

LOCALISATION DES TERRITOIRES PRÉSOMPTIFS DE L'APPAREIL DIGESTIF CHEZ L'EMBRYON DE 9 A 25 SOMITES

Cette localisation a été étudiée par des expériences de radiodestruction aux rayons X et des marquages au charbon animal.

A. — Méthode des radiodestructions localisées
pratiquées entre un somite déterminé et la région terminale de l'embryon.

La méthode utilisée consiste à détruire par une forte dose de rayons X (10.000 r), administrée en une seule fois, une bande transversale de l'embryon délimitée par deux écrans de plomb. Les embryons sont irradiés aux stades de 9 à 24 paires de somites (stades 10 à 15 de HAMBURGER et HAMILTON, 1951). Le niveau antérieur de l'irradiation est déterminé dans chaque série expérimentale par un somite pris comme repère. La région postérieure de l'embryon est, dans tous les cas, protégée par un écran de plomb pour permettre le développement de l'allantoïde. Dans ces conditions, la zone irradiée se nécrose rapidement et est éliminée. Les deux parties protégées se raccordent par un court pédicule qui ne possède généralement pas de germes plumaires. Le développement de l'allantoïde permet à un certain nombre d'embryons de chaque série expérimentale de survivre au-delà du 7^e jour de l'incubation, ce qui facilite l'étude anatomique de l'appareil digestif.

A la dissection, on constate l'absence de certains organes de l'appareil digestif des embryons irradiés. Il est donc possible de déterminer par cette méthode la localisation des territoires endodermiques présomptifs à différents niveaux transversaux.

Le tableau I indique les séries expérimentales réalisées.

TABLEAU I

Radiodestruction de territoires embryonnaires déterminés.

Limites du territoire irradié		Nombre de cas ⁽¹⁾		Parties du tube digestif supprimées par l'intervention
Antérieure	Postérieure			
En arrière du 2 ^e somite	1/3 postérieur du sinus rhomboïdal (Embryons de 9 à 12 somites)	112	19	Estomac. Anse duodénale. Grande anse intestinale
En arrière du 5 ^e somite	<i>Idem</i> (Embryons de 9 à 15 somites)	30	10	Partie postérieure du gésier. Anse duodénale. Grande anse intestinale
En arrière du 6 ^e ou 7 ^e somite	<i>Idem</i> (Embryons de 9 à 15 somites)	30	12	Anse duodénale. Grande anse intestinale
En arrière du 8 ^e , 9 ^e ou 10 ^e somite	<i>Idem</i> (Embryons de 9 à 15 somites)	30	13	Partie postérieure de l'anse duodénale. Grande anse intestinale
En arrière du 15 ^e somite	<i>Idem</i> (Embryons de 13 à 15 somites)	20	7	Grande anse intestinale
En arrière du 23 ^e somite	Bouton terminal (Embryons de 23 à 25 somites)	25	8	Rectum et cæca

(¹) Le premier nombre est celui des embryons irradiés, le second celui des embryons ayant survécu au-delà du 7^e jour de l'incubation.

1^o Irradiation pratiquée en arrière du 2^e somite.

Au stade de l'intervention (9 à 12 somites), la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal n'a pas encore dépassé vers l'arrière le niveau du 2^e somite. L'ébauche cardiaque n'est donc pas lésée par l'irradiation, ce qui permet la survie des embryons dans un certain nombre de cas.

Les embryons sont sectionnés juste en arrière de la tête, le cou et la plus grande partie du tronc manquent totalement. La tête est rattachée à la partie postérieure du corps qui a été protégée de l'irradiation par un écran de plomb (fig. 1). La cœlosomie est très fréquente dans cette série

expérimentale : le cœur fait saillie à l'extérieur de ce qui subsiste de la cavité générale. Le péricarde ventral étant généralement soudé au bord antérieur de la cavité du tronc, la position du cœur est inversée, l'apex ventriculaire étant dirigé crânialement. Le cœur et les arcs aortiques sont anormaux ; de façon constante, la torsion du tube cardiaque est inachevée et le bulbe artériel reste situé à droite de l'atrium. Les arcs 3 sont très réduits et l'aorte dorsale est formée par l'arc 6 droit. Les conséquences de la radiodestruction de territoires embryonnaires déterminés sur l'organo-génèse cardio-vasculaire ont été décrites ailleurs (N. LE DOUARIN, 1961 a

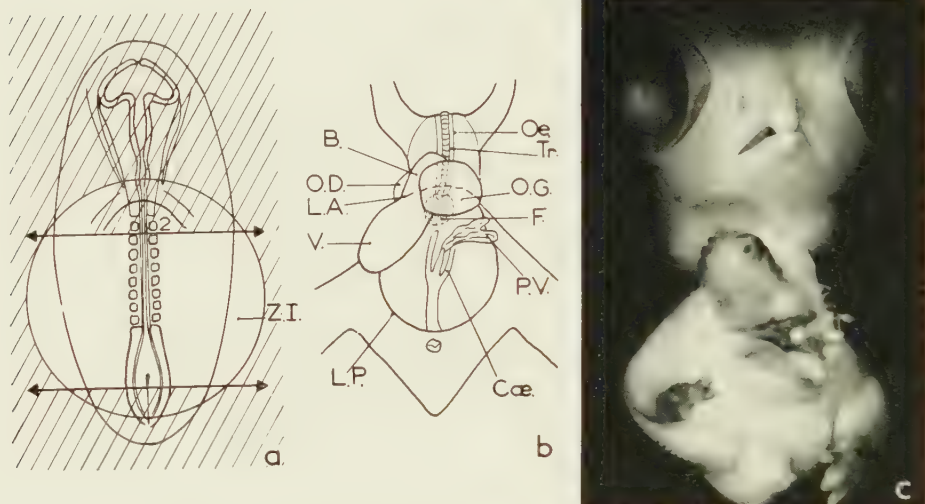


Fig. 1. — *a*) Schéma de l'irradiation d'un embryon de 9 somites entre le 2^e somite et la région terminale ; *b*) Résultat de cette intervention au niveau des organes internes. Le tube digestif est réduit à l'œsophage (Oe.) en avant, le rectum et les cæca (Cæ.) en arrière. La trachée (Tr.) est sectionnée en avant des bronches. Le foie (F.) est réduit à un petit lobe adhérent au sinus veineux et à l'extrémité de l'œsophage ; *c*) Morphologie externe d'un embryon. On note l'absence du cou et la cœlosomie. La paroi du cœur est anormale et les ventricules sont dirigés crânialement.

B. : Bulbe aortique ; L. A.-L. P. : Limites antérieure et postérieure de la cœlosomie ; O. D.-O. G. : Oreillettes droite et gauche ; P. V. : Pédicule vitellin ; V. : Ventricule ; Z. I. : Zone irradiée.

et *b*). Les poumons sont absents et la trachée est sectionnée en avant de la ramification des bronches.

L'appareil digestif est incomplet (fig. 1 *b*). Il en subsiste l'œsophage, à l'extrémité duquel adhère un petit fragment de tissu hépatique uni également à la paroi du sinus veineux. Dans la partie postérieure du corps respectée par l'irradiation se sont développés le rectum, les cæca et un petit fragment de la grande anse intestinale auquel se rattache le pédicule vitellin.

2^o Irradiation pratiquée en arrière du 5^e somite.

A partir de ce niveau, la mortalité des embryons irradiés est moins importante que dans la série expérimentale précédente.

Une petite partie du cou est respectée par l'irradiation. Elle est reliée à la partie postérieure du tronc. Les embryons en général ne sont pas coelomiens, les viscères sont contenus dans une poche faisant hernie à la base du cou (fig. 2 c).

Comme précédemment, la partie postérieure du corps respectée par l'irradiation contient le rectum, les cæca et une petite partie de l'anse

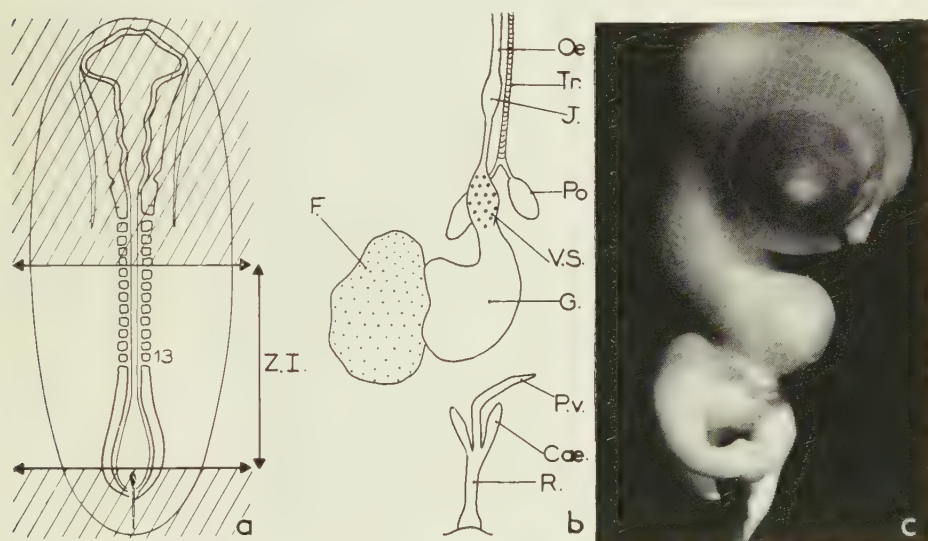


Fig. 2. — a) Schéma de l'irradiation d'un embryon de 13 somites entre le 5^e somite et la région postérieure; b) Effets de cette intervention sur les organes internes. Le tube digestif est sectionné au niveau du gésier qui est incomplet. Le foie est réduit. Le tube digestif postérieur est normal. L'appareil respiratoire est complet; c) Morphologie externe d'un embryon. Les organes sont logés dans une poche faisant hernie à la base du cou qui est réduit.

G. : Gésier; J. : Jabot; Po. : Poumons; R. : Rectum; V. S. : Ventricule succenturié (Autres légendes comme précédemment).

grêle terminée par le pédicule vitellin. La partie antérieure du tube digestif comprend l'œsophage, le ventricule succenturié et environ le quart antérieur du gésier. Ce dernier est prolongé par un lobe de foie très réduit. La trachée et les poumons sont normaux (fig. 2 b).

3° Irradiation pratiquée en arrière du 6^e ou du 7^e somite.

Ces embryons ressemblent, au point de vue de la morphologie externe, à ceux qui ont été irradiés en arrière du 5^e somite. Le cou, plus long que chez les embryons de la série précédente, est réduit de moitié environ par rapport à la normale. Le gésier, prolongé par un fragment de foie, est complet lorsque l'irradiation est pratiquée en arrière du 7^e somite. La partie postérieure non irradiée contient les organes digestifs précédemment indiqués.

*4° Irradiation pratiquée en arrière du 8^e,
du 9^e ou du 10^e somite.*

Ces embryons diffèrent des précédents par la longueur du cou, qui est ici plus grande et, en ce qui concerne le tube digestif, par la présence d'un gésier complet prolongé par la partie proximale de l'anse duodénale qui se raccorde de façon normale à l'estomac. Le foie, qui est plus largement développé que dans les séries précédentes, est encore incomplet et les voies biliaires sont absentes (fig. 3).

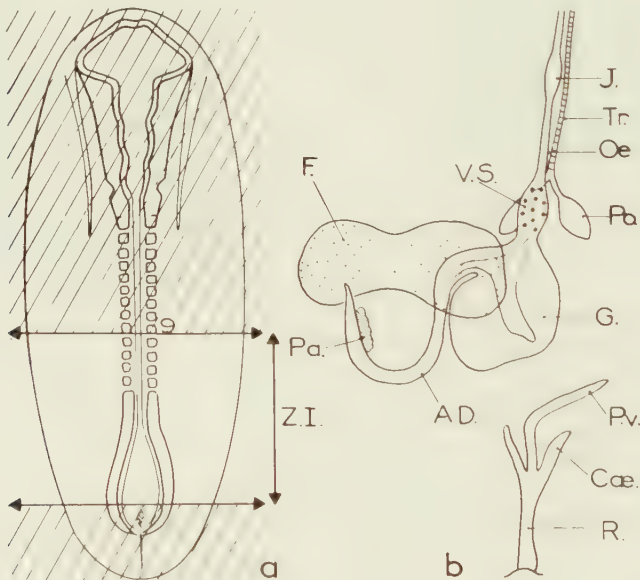


Fig. 3. — a) Schéma de l'irradiation entre le 9^e somite et la région terminale de l'embryon ; b) Résultat de cette intervention au niveau des organes internes. Le tube digestif est tronqué vers la partie moyenne de l'anse duodénale (A. D.). Le foie est encore réduit.

Pa. : Pancréas (Autres légendes comme précédemment).

5° *Irradiation pratiquée en arrière du 15^e somite.*

La morphologie des embryons est différente de celle qui a été décrite pour les séries expérimentales précédentes. En effet, le cou est complet et se rattache à la partie postérieure du corps respectée par l'irradiation. La coelosomie est constante, les viscères font hernie à l'extérieur du corps (fig. 4). L'appareil digestif est normal jusqu'à l'anse duodénale incluse. L'anse grêle est absente. Le foie et le pancréas sont bien développés, ainsi que les voies biliaires et pancréatiques.

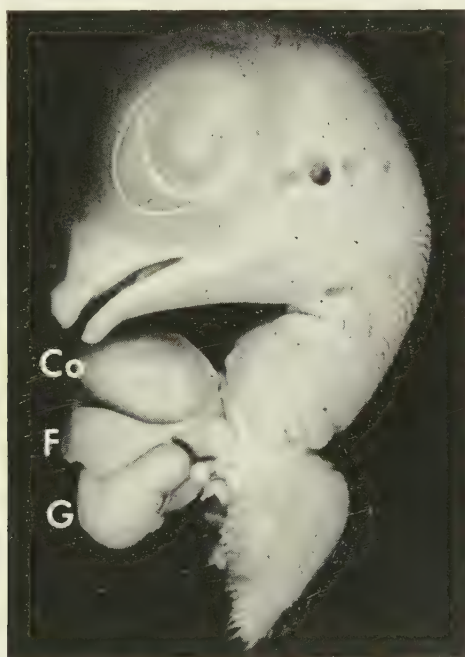


Fig. 4. — Embryon irradié entre le 15^e somite et la région terminale du corps. Coelosomie. Les viscères font hernie à la base du cou. Le tube digestif est normal jusqu'à l'extrémité de l'anse duodénale.

Co. : Cœur ; F. : Foie ; G. : Gésier.

6° *Irradiation pratiquée en arrière du 23^e somite.*

Chez les embryons des séries expérimentales précédentes possédant de 9 à 15 somites, la partie terminale du sinus rhomboïdal était toujours protégée de l'irradiation par un cache en plomb. Dans ces conditions, la partie postérieure du corps se développait normalement et contenait le rectum, les cæca et la partie terminale de l'anse grêle. Les territoires présomptifs de ces organes digestifs sont donc situés, chez les embryons de 9 à 15 somites, dans le tiers postérieur du sinus rhomboïdal. Chez des

embryons plus âgés, ayant de 23 à 25 somites, on peut irradier le territoire postérieur au 23^e somite, en protégeant la partie tout à fait postérieure du corps appelée le bouton terminal. Il en résulte que le tronc est sectionné en avant des membres postérieurs. Le rectum et les cæca sont absents et la grande anse intestinale se termine en cul-de-sac.

En conclusion, les résultats des expériences qui viennent d'être décrites permettent d'établir la localisation selon l'axe crânio-caudal des ébauches présomptives de l'appareil digestif chez l'embryon de Poulet de

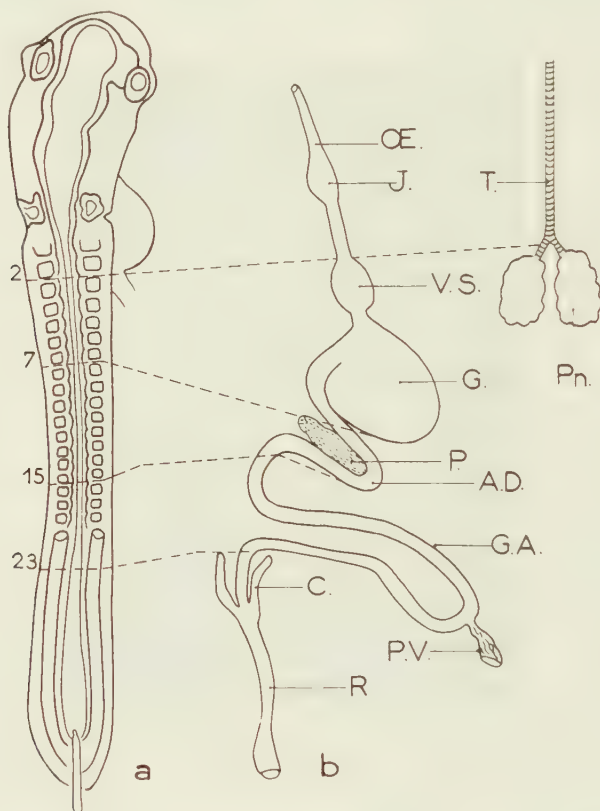


Fig. 5. — Localisation des territoires présomptifs de l'appareil digestif chez des embryons de 9 à 25 somites d'après des expériences de radiodestruction. La figure représente, sur un embryon de 18 somites (a), la répartition antéro-postérieure des territoires correspondant aux organes de l'appareil digestif et respiratoire (b).

A. D. : Anse duodénale ; C. : Cæcum ; OE. : Esophage ; J. : Jabot ; G. : Gésier ; G. A. : Grande anse intestinale ; P. : Pancréas ; Pn. : Poumon ; P. V. : Pédicule vitellin ; R. : Rectum ; T. : Trachée ; V. S. : Ventricule succenturié.

9 à 25 somites. La figure 5 résume les résultats obtenus. On constate que les territoires présomptifs des parties antérieures et moyennes de l'appareil digestif sont situés en avant du 15^e somite aux stades considérés, c'est-à-dire au niveau des somites cervicaux. Les organes qui proviennent du

développement de l'endoderme de cette région se déplacent vers l'arrière au cours de l'organogenèse et viennent se situer dans la cavité générale du tronc.

Toutes les radiodestructions pratiquées à des niveaux antérieurs au 15^e somite détruisent une partie de l'ébauche du foie. Toutefois, même l'irradiation pratiquée en arrière du 2^e somite ne détruit pas totalement le territoire présomptif du foie. On peut conclure de ces expériences que la limite antérieure du territoire hépatique est située en avant du 2^e somite et que sa limite postérieure est comprise entre le niveau du 10^e et celui du 15^e somite.

L'anse grêle de l'intestin est localisée entre le niveau du 15^e et celui du 23^e somite chez l'embryon au stade de 23 somites. Au stade de 10 somites, elle est située en avant du tiers postérieur du sinus rhomboïdal. Les territoires présomptifs du rectum et des cæca sont localisés dans le tiers postérieur du sinus rhomboïdal.

Ces expériences de radiodestructions mettent par ailleurs en évidence une différence entre les territoires présomptifs de la région antérieure de l'embryon et ceux de la région postérieure. En effet, dans la région postérieure il n'apparaît pas de décalage entre la radiodestruction produite dans les organes digestifs d'une part et dans les organes du système axial d'autre part. Au contraire, pour les parties antérieure et moyenne de l'appareil digestif, on observe que les lésions sont très nettement décalées au cours du développement par rapport à celles du système axial. Ainsi, l'irradiation pratiquée en arrière du 2^e somite détruit la plus grande partie du cou alors qu'elle affecte non seulement l'œsophage, mais aussi les organes digestifs abdominaux.

Il convient de remarquer que la méthode utilisée dans les expériences qui viennent d'être décrites ne permet d'établir la localisation des ébauches digestives que selon l'axe crânio-caudal de l'embryon. La répartition transversale des territoires de part et d'autre de cet axe a été étudiée en utilisant d'autres techniques. D'autre part, la méthode des destructions de territoires embryonnaires n'est pas à elle seule capable de fournir une idée exacte de la destinée réelle d'une région. En effet, à la suite de l'intervention, certaines perturbations du développement peuvent être plus ou moins compensées par des phénomènes de régulation ; des territoires détruits peuvent être remplacés dans l'organogenèse par d'autres qui n'ont pas, dans le développement normal, la même destinée.

La méthode des marques colorées qui ne perturbe pas le cours du développement a donc été utilisée pour compléter les résultats.

B. — Méthode des marques colorées.

Les marques de charbon ont déjà été utilisées par LUTZ (1954-1955) pour étudier le mode de formation de l'endoblaste au cours des premières heures du développement du blastoderme d'Oiseau. BELLAIRS (1953 *a* et *b*)

les a employées également pour localiser les territoires présomptifs de l'intestin antérieur. Étant donné la difficulté d'atteindre *in ovo* l'endoderme, cet auteur a marqué des embryons cultivés *in vitro* sur la face dorsale. Les grains de charbon étaient déposés à des endroits déterminés de l'endoderme au stade de la ligne primitive et du prolongement céphalique et leur incorporation à l'intestin antérieur était suivie jusqu'au stade de 10 somites environ.

J'ai cherché, pour ma part, à marquer l'endoderme chez des embryons plus âgés, aux stades de 9 à 23 somites et à étudier la localisation des marques dans l'appareil digestif. J'ai opéré sur l'embryon dans l'œuf.

Les marques sont de petits amas de grains de charbon agglomérés par de l'albumine. Elles sont insérées dans une fente affectant les trois feuillets embryonnaires de la région à étudier. La cicatrisation de la plaie est rapide. Au cours du développement de l'embryon, la marque se désagrège plus ou moins, surtout si les mouvements morphogénétiques qui affectent les tissus de la région considérée sont importants. Si le volume des marques n'est pas trop grand, le développement n'est pas perturbé. Dans de nombreux cas, l'endoderme n'a pas retenu les grains de charbon. Le marquage de ce feuillet est en effet assez difficile à réaliser *in ovo*. Cependant, j'ai réussi à marquer simultanément les trois feuillets de l'embryon dans un nombre de cas assez grand pour que des conclusions puissent être dégagées.

Les embryons ont été utilisés aux stades de 9 à 23 somites, selon les séries expérimentales. Les résultats ont été observés au 6^e ou au 7^e jour de l'incubation.

1^o Marquage de l'endomésoderme médio-dorsal.

Les marques ont été insérées entre les deux rangées de somites, dans une fente pratiquée dans la moelle épinière et les tissus sous-jacents. Les embryons de cette série expérimentale ont été marqués au stade de 9 à 15 somites. Les résultats obtenus en ce qui concerne le marquage de l'épithélium endodermique des organes digestifs correspondant à l'intestin antérieur sont résumés dans le tableau II.

Ces résultats confirment que les territoires endomésodermiques correspondant aux organes digestifs antérieurs (œsophage, estomac et anse duodénale) se situent au niveau des somites destinés à former le cou. Ces territoires subissent donc un décalage par rapport aux organes axiaux au cours de l'organogenèse. Le glissement antéro-postérieur de l'endomésoderme par rapport à l'ectoderme dorsal et aux somites est matérialisé par une trainée de grains de charbon que l'on peut observer *in ovo* jusqu'au 4^e jour de l'incubation. Ensuite on prélève les embryons, la dissection et l'étude histologique permettent de reconstituer le déplacement des différents tissus. Par exemple, lorsque les grains de charbon ont été placés au niveau des 2 premiers somites, leur répartition au 5^e jour de l'incubation est la suivante :

TABLEAU II

*Marquage de l'endomésoderme par des grains de charbon
chez des embryons de 9 à 15 somites.*

Niveau somitique	Nombre de cas	Organes marqués (Nombre de cas)				
		(Esophage)	Ventricule succenturié	Gésier	Anse duodénale	Pancréas dorsal
1	6	6	1	0	0	0
2						
3	8	2	8	7	0	0
4						
5						
6	5	0	0	5	0	1
7						
8						
9	8	0	0	0	8	8
10						
11						
12	4	0	0	0	4	4
13						

Les grains retenus par l'ectoderme sont situés dans le toit du 4^e ventricule cérébral.

La paroi mésodermique de l'œsophage est marquée au niveau du sillon laryngo-trachéal, tandis que les marques n'atteignent l'endoderme que plus caudalement, à l'endroit où s'ébauche la ramification des bronches (fig. 6).

Les marques implantées au niveau du 9^e somite permettent d'observer un décalage encore plus important entre l'ectoderme et l'endomésoderme. Dans ce cas, en effet, les marques affectent l'ectoderme dans la région antérieure du cou, tandis que dans l'endoderme elles sont situées dans le duodénum et le pancréas dorsal (fig. 7).

La technique des marques de charbon a également permis de confirmer les localisations endodermiques dans le territoire postérieur au 15^e somite déjà établies par les expériences de radiodestructions. Les marques implantées entre le niveau du 15^e et celui du 23^e somite ont été retrouvées disposées selon une génératrice dorsale, dans la grande anse intestinale (somites 15 à 20 : partie pré-ombilicale de l'anse grêle, somites 20 à 23 : partie post-ombilicale de l'anse grêle). Les marques placées en arrière du niveau du 23^e somite affectent le rectum et le cloaque.

On voit que dans la région médio-dorsale de l'embryon les territoires présomptifs des différents organes digestifs présentent une disposition antéro-postérieure correspondant à leur situation définitive.

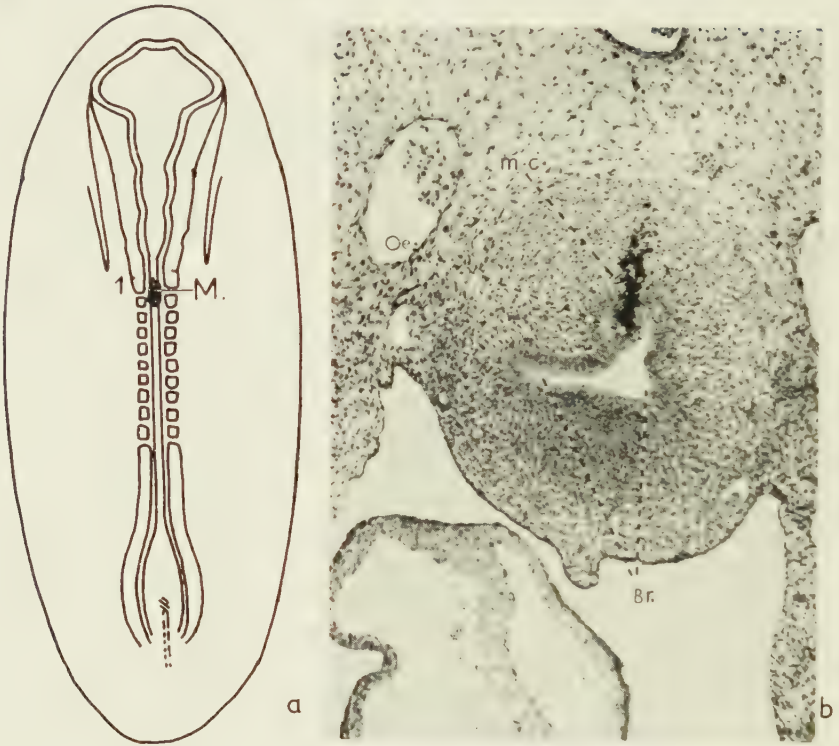


Fig. 6. — *a*) Marquage d'un embryon de 9 somites dans la région médio-dorsale au niveau des deux premiers somites ; *b*) Résultat obtenu : l'endoderme de l'œsophage (Oe.) est atteint par les marques au point de ramification des bronches (Br.).

m. c. : Marques de charbon (Hématoxyline-Éosine, $\times 90$).

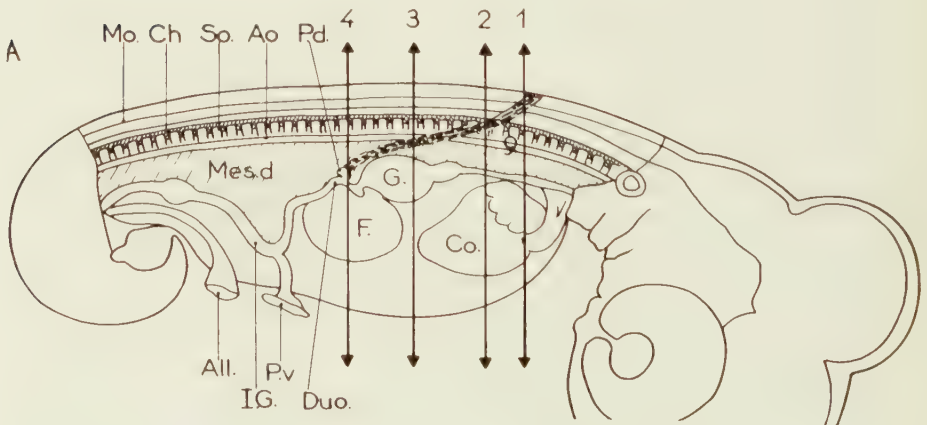


Fig. 7.

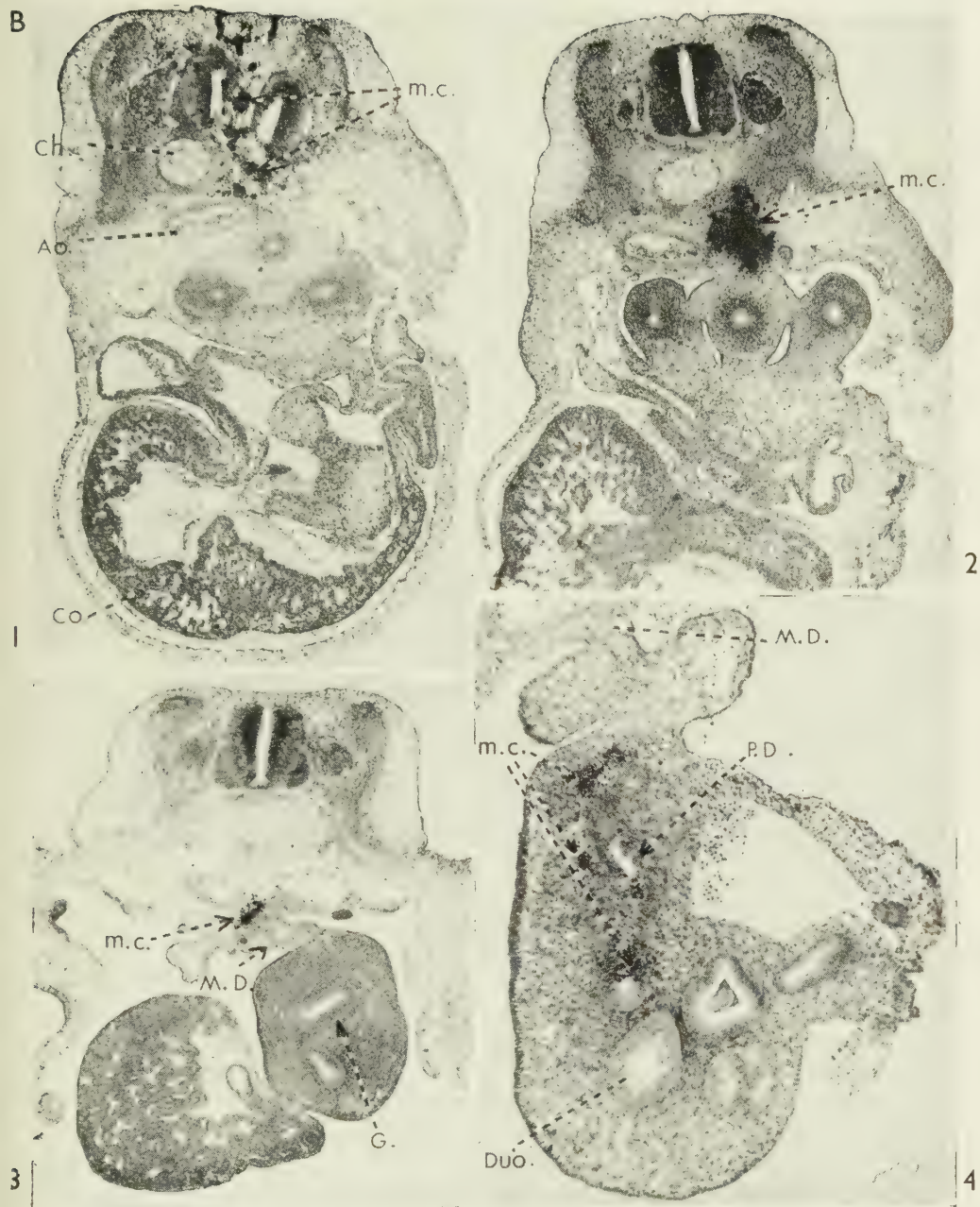


Fig. 7. — A) Semi-coupe longitudinale d'un embryon de 6 jours d'incubation montrant la trainée de grains de charbon produite par une marque placée dorsalement au niveau du 9^e somite. Les niveaux 1, 2, 3 et 4 correspondent aux coupes représentées en B ; B) Les organes marqués sont d'avant en arrière : le système axial (1), le mésoderme du tronc (2), le mésentère dorsal (M. D.) (3) et enfin l'endoderme au niveau du pancréas dorsal (P. D.) (4).

All. : Allantoïde ; Ao. : Aorte ; Ch. : Corde ; Co. : Cœur ; Duo. : Duodénum ; F. : Foie ; G. : Gésier ; I. G. : Intestin grêle ; Més. d. : Mésentère dorsal ; Mo. : Moelle ; So. : Somite ; P. d. : Pancréas dorsal ; P. v. : Pédicule vitellin ; m. c. : Marques de charbon (Hématoxyline-Eosine, 1, 2 et 3 : $\times 30$; 4 : $\times 80$).

2° *Marquage du repli cardiaque.*

Les embryons utilisés dans cette série expérimentale ont de 8 à 12 somites. L'implantation des marques dans le repli cardiaque est effectuée de la manière suivante : la tête de l'embryon est soulevée et une marque de charbon est insérée dans une fente pratiquée dans la partie réfléchie, c'est-à-dire inférieure, du repli. Un certain nombre de grains sont retenus par l'endoderme et le mésoderme splanchnique. L'évolution des marques est suivie jusqu'au 6^e jour de l'incubation, puis à ce stade, les embryons sont prélevés et disséqués. On peut ainsi observer que la marque est entraînée vers l'arrière par suite du recul de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal ; au 6^e jour, elle se trouve située au niveau de l'ombilic et réunit la paroi ventrale du corps à la face ventrale du foie. A ce niveau, les grains de charbon sont dispersés dans le tissu hépatique ; dans un certain nombre de cas (3 sur 9), une trainée médio-ventrale de grains affecte l'œsophage, l'estomac et l'intestin pré-ombilical.

La fermeture de la gouttière intestinale sur la ligne ventrale ne s'opère donc pas simplement par le rapprochement des bords de cette gouttière. En effet, cette expérience montre que la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal est constituée du même matériel embryonnaire pendant que s'effectue la fermeture de l'intestin pré-ombilical. Ce matériel forme une plaque médio-ventrale, qui se déplace d'avant en arrière et à laquelle se soudent les bords de la gouttière digestive ; il constitue ainsi une sorte de ciment qui unit les deux lèvres de cette gouttière endomésodermique, comme l'atteste la trainée de marques de charbon visible sur la face ventrale des organes digestifs pré-ombilicaux. De même du matériel ectomésodermique médian descend avec le repli cardiaque, le long du raphé ventral de l'embryon et participe à la fermeture de la paroi du corps.

Ce résultat suggère une remarque. Deux théories ont cours en ce qui concerne le mode de formation de l'intestin. Selon la théorie classique, correspondant aux descriptions rencontrées dans les traités d'Embryologie et due principalement à HIS (1874), l'intestin se forme par la suture sur la ligne médio-ventrale des deux bords de la gouttière digestive. La lèvre antérieure de l'ombilic intestinal est donc constituée au cours du développement par un matériel différent, sans cesse renouvelé, provenant de régions de plus en plus caudales de l'embryon.

Une deuxième théorie, moins couramment admise, rencontre cependant quelques partisans comme ROBINSON (1903), FRAZER (1916), FUNCCIUS (1909) et LUDWIG (1919) dont les recherches ont porté surtout sur les premiers stades de l'organogenèse cardiaque et hépatique. Selon ce second point de vue, la partie ventrale de l'intestin antérieur est constituée, dès un stade précoce du développement, par une formation impaire, médiane ayant pour origine un territoire embryonnaire situé en avant de la plaque médullaire. Ce territoire correspond au champ péricardique et à l'épithélium pharyngien ; les deux lèvres de la gouttière digestive

se soudent à cette formation médio-ventrale au cours de la fermeture de l'intestin antérieur.

Mes expériences montrent que le matériel situé dans la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal au stade de 9 somites y demeure jusqu'à la fermeture complète de l'intestin antérieur et coopère à l'organogenèse du foie. Elles ne peuvent entrer dans le cadre de la théorie classique, mais confirment au contraire l'existence d'une formation médiane qui assure la soudure des deux bords de la gouttière digestive pré-ombilicale.

3^o Marquage des régions latérales du blastoderme.

Dans une première série expérimentale des marques de charbon ont été implantées dans l'aire pellucide d'embryons de 9 à 15 somites, à égale distance entre le bord somitique et l'aire opaque. Les résultats observés au 6^e jour de l'incubation sont résumés dans le tableau III.

TABLEAU III

Résultat de l'implantation de marques dans l'aire pellucide à différents niveaux de l'embryon.

Niveau somitique	Nombre de cas	Organes marqués (Nombre de cas)						
		Œsophage	Ventricule succenturié	Gésier	Anse duodénale	Voies biliaires	Foie	Grande anse intestinale
1 2	10	0	0	0	6	6	10	2
3 4 5	15	0	0	0	15	13	15	5
6 7 8 9	7	0	0	1	4	3	7	4
10 11	5	0	0	0	5	1	5	4
12 13 14	5	0	0	0	4	1	5	5
15	5	0	0	0	0	0	0	5

Il apparaît que l'endomésoderme des régions embryonnaires latérales situées jusqu'au 15^e somite entre dans la constitution du foie, des voies biliaires, de l'anse duodénale et de la grande anse intestinale.

L'anse duodénale et la grande anse intestinale pré-ombilicale sont atteintes selon une génératrice dorsale par les marques placées dorsalement au niveau des somites 8 à 20 et selon des génératrices latérales et ventrales par les marques situées de part et d'autre de l'axe embryonnaire au niveau des somites antérieurs. Ces organes ont donc une origine complexe. Leur formation nécessite des mouvements morphogénétiques

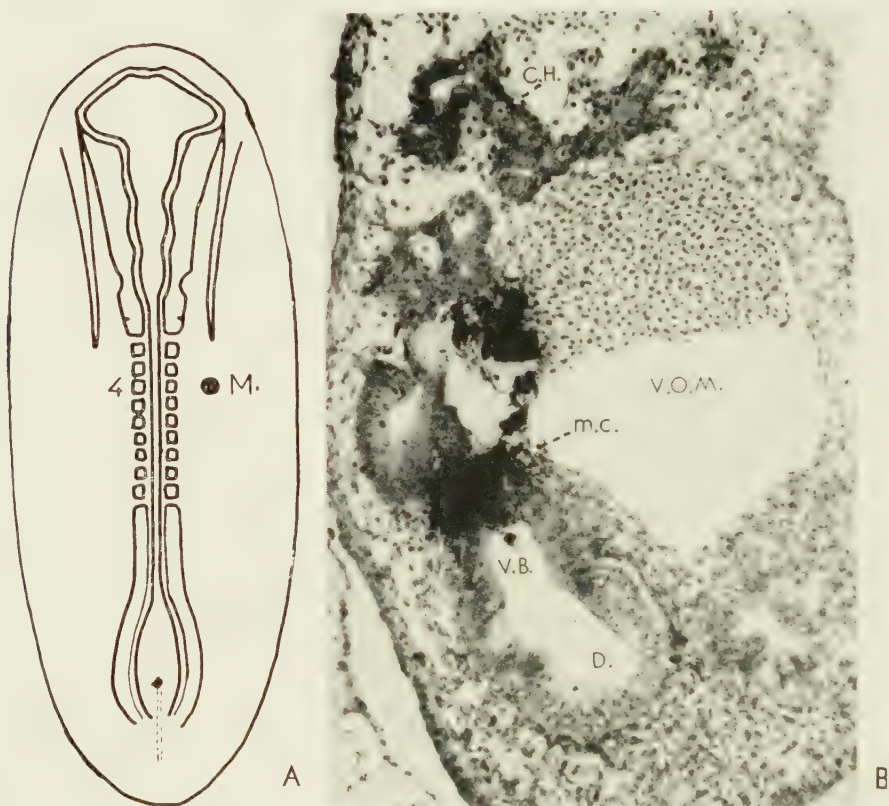


Fig. 8. — A) Marquage de la région latérale droite d'un embryon de 12 somites au niveau du 4^e somite ; B) Localisation des marques de charbon (m. c.) au niveau des voies biliaires (V. B.) chez un embryon de 4 jours 1/2.

D. : Duodénum ; V. O. M. : Veine omphalo-mésentérique ; C. H. : Cordons hépatiques (Hématoxyline-Eosine, $\times 160$).

consistant dans un glissement des parties ventrales par rapport aux parties médio-dorsales.

La plus grande partie du matériel des voies biliaires et de la région de l'anse duodénale où elles débouchent est située dans les aires latérales correspondant aux somites 3 à 5. En effet, on remarque que c'est en implantant des marques à ce niveau que ces organes sont le plus souvent atteints (fig. 8).

On voit donc que des organes éloignés les uns des autres comme l'œsophage et l'anse duodénale ont leurs territoires présomptifs situés en partie au même niveau transversal chez l'embryon de 9 à 15 somites.

Dans les aires latérales de l'embryon, les territoires présomptifs ne sont pas répartis selon la disposition définitive des organes digestifs. Dans ces régions, les potentialités à former l'anse duodénale et l'anse grêle sont intimement mêlées. On voit en effet qu'une même marque

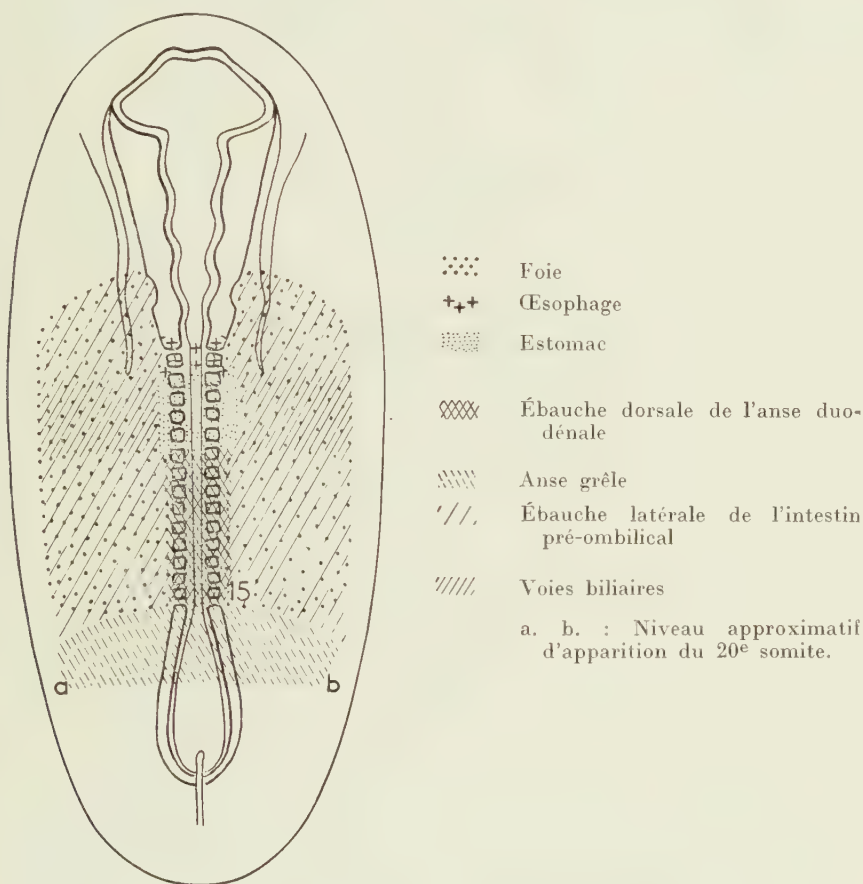


Fig. 9. — Carte des ébauches de l'appareil digestif pré-ombilical représentée sur un embryon de 15 somites.

latérale affecte l'intestin pré-ombilical sur toute sa longueur. Ces territoires latéraux prennent leur place définitive par un mouvement de glissement antéro-postérieur.

L'étude de ces mouvements morphogénétiques fera l'objet du chapitre suivant.

Le marquage des territoires latéraux situés en arrière du 15^e somite a fait l'objet d'une deuxième série expérimentale. Les embryons ont été

utilisés aux stades de 18 à 23 somites. Lorsque la marque est implantée au niveau du 18^e somite, elle atteint la partie pré-ombilicale de l'anse grêle sur sa face latérale. Elle subit donc un déplacement en direction crânio-caudale.

Lorsque la marque est implantée au niveau du 21^e somite, elle atteint l'intestin dans la région de l'ombilie.

Les marques situées en arrière du 21^e somite se localisent successivement dans la partie post-ombilicale de l'anse grêle, les cæca, le rectum, puis le cloaque.

Une carte des ébauches de l'appareil digestif pré-ombilical résume les résultats obtenus (fig. 9).

CHAPITRE II

LES MOUVEMENTS MORPHOGÉNÉTIQUES DANS L'ORGANOGENÈSE DE L'APPAREIL DIGESTIF PRÉ-OMBILICAL

A. — Mise en évidence des mouvements par le déplacement de marques de charbon.

La méthode utilisée pour l'étude des mouvements morphogénétiques a consisté à placer chez des embryons de 9 à 21 somites deux marques de charbon sur un même niveau transversal ; l'une est implantée dans l'axe médio-dorsal et l'autre dans la région moyenne de l'aire latérale droite. Les déplacements de ces marques sont observés *in ovo* jusqu'au 7^e jour de l'incubation. Différents niveaux somitiques ont été choisis :

2^e, 4^e, 7^e et 10^e somites chez des embryons de 9 à 12 somites ;
15^e et 20^e somites chez des embryons de 15 à 21 somites.

L'évolution d'un embryon marqué au niveau du 4^e somite sera décrite en détail à titre d'exemple (fig. 10).

Dès la fin du 2^e jour de l'incubation on observe un décalage entre les deux marques. La marque latérale semble se déplacer vers l'arrière par rapport à celle qui est implantée dans la région médio-dorsale de l'embryon. Au stade de 30 somites, la marque latérale atteint le niveau du 12^e somite tandis que la partie superficielle, ectodermique, de la marque latérale reste située au niveau du 4^e somite ; sa partie profonde commence à être entraînée vers l'arrière. Ce décalage s'accroît ensuite de telle sorte que la marque latérale se trouve située au niveau de l'aile au 4^e jour de l'incubation, puis aboutit ensuite à l'ombilie intestinal.

La répartition des marques dans les organes internes de l'embryon est étudiée au 7^e jour de l'incubation. La dissection montre que la partie profonde de la marque médiane affecte la paroi dorsale de l'estomac, tandis que les grains de charbon provenant de la marque latérale sont dispersés dans le lobe droit du foie, les voies biliaires et la partie de l'anse duodénale où elles se jettent. Quelques marques sont réparties dans la paroi ventrale de l'anse grêle.

On constate en comparant les différents embryons de cette série expérimentale que le décalage des marques latérales par rapport aux marques

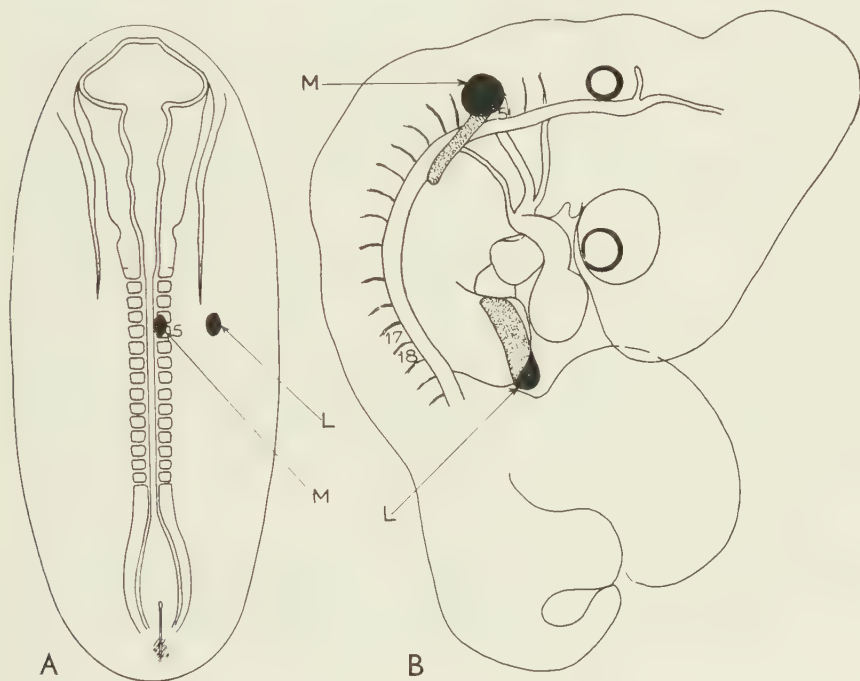


Fig. 10. — *A*) Marquage médian (M) et latéral (L) d'un embryon de 15 somites au niveau des somites 4 et 5 ; *B*) Le même embryon à 4 jours d'incubation. On observe un décalage entre les deux marques. La marque L a reculé au niveau du membre antérieur, la partie profonde de la marque M est entraînée en direction caudale par le tube digestif. 17 et 18 : 17^e et 18^e somites.

médianes est d'autant plus important et débute d'autant plus tôt qu'elles ont été placées plus crânialement.

Des grains de charbon se détachent de l'agrégat initial au cours du déplacement des marques. Les marques latérales sont incorporées au tube digestif pré-ombilical lors du recul du repli cardiaque. Les marques suivent un trajet d'autant plus rapproché de la ligne médiane qu'elles ont été insérées plus crânialement. La figure 11 schématise les déplacements de marques placées à différents niveaux. On peut également se rendre compte du trajet

cutané suivi par chaque marque, grâce à la trainée de grains de charbon qu'elle laisse dans les tissus. Cette trainée décrit une courbe qui se termine au niveau du pédoncule ombilical.

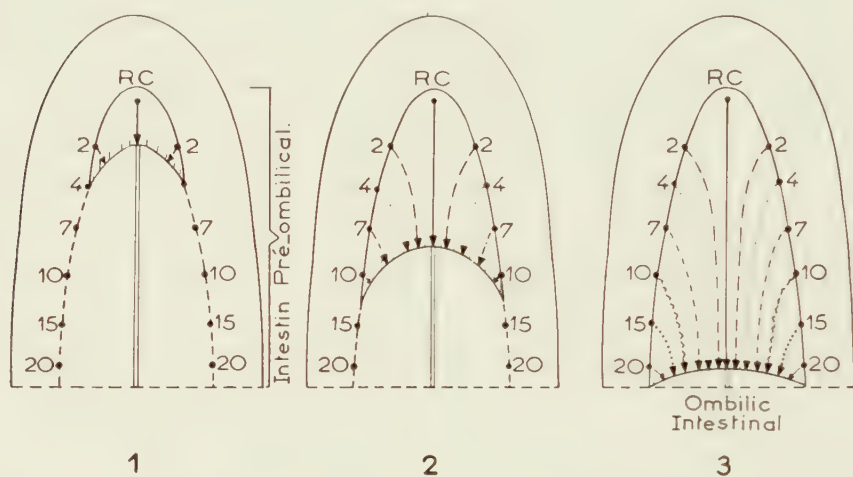


Fig. 11. — Diagramme représentant, à trois stades différents, le déplacement des marques latérales au cours de la formation de l'intestin. Les marques ont été placées, aux stades de 9 à 21 somites, soit dans le repli cardiaque (R. C.), soit dans l'aire latérale au niveau transversal des 2^e, 4^e, 7^e, 10^e, 15^e et 20^e somites. Les marques sont incorporées à l'intestin lors de la descente de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal. Elles décrivent un trajet d'autant plus latéral qu'elles ont été placées plus caudalement.

B. Influence de l'inhibition des mouvements morphogénétiques sur l'organogenèse de l'appareil digestif pré-ombilical.

1^o Méthode utilisée.

Au cours de son déplacement crânio-caudal, le repli cardiaque entraîne les régions embryonnaires latérales. J'ai cherché à empêcher ce déplacement en plaçant des fragments rectangulaires de membrane coquillière de part et d'autre de l'axe somitique dans la région antérieure de l'embryon. Ces obstacles sont insérés *in ovo* dans des fentes transversales intéressant les trois feuilletts depuis l'axe somitique jusqu'à l'aire opaque (fig. 12). Les embryons utilisés pour ces expériences ont de 9 à 15 somites. Cette intervention entraîne un fort pourcentage de mortalité, surtout lorsque les obstacles sont placés au niveau des premiers somites. Toutefois, il a été possible d'obtenir l'établissement de la circulation et un développement se poursuivant au moins jusqu'au 6^e jour dans un nombre de cas suffisant.

2^o Résultats.

La descente du repli cardiaque est arrêtée par les obstacles ; en arrière de ceux-ci, l'embryon reste ouvert ventralement jusqu'à l'ombilic. Ni la paroi du corps ni le tube digestif ne se ferment sur la ligne médio-ventrale. Les organes digestifs affectés par cette intervention varient selon le niveau d'implantation des obstacles.

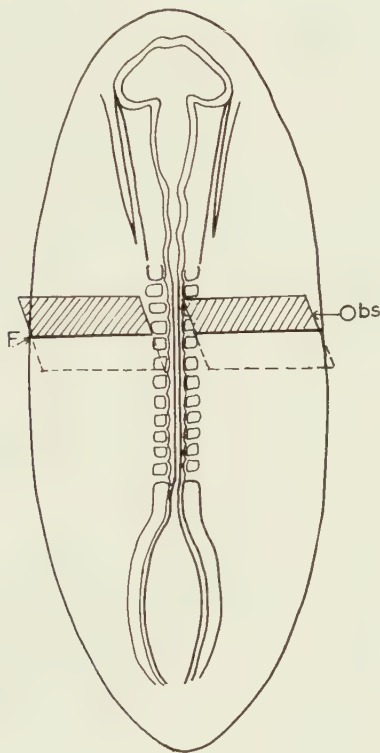


Fig. 12. — Embryon de 12 somites sur lequel des obstacles transversaux (Obs.) constitués par un fragment de membrane coquillière ont été insérés dans une fente transversale (F.) allant de l'axe somitique à l'aire opaque.

Les séries expérimentales suivantes ont été réalisées :

Implantation des obstacles au niveau des

- | | |
|---|---------------------------------------|
| — 3 ^e somite | } chez des embryons de 9 à 13 somites |
| — 6 ^e somite | |
| — 9 ^e somite | |
| — 15 ^e somite : chez des embryons de 15 somites. | |

L'évolution des embryons chez lesquels les obstacles ont été placés au niveau des 3^{es} somites sera décrite en détail (fig. 13).

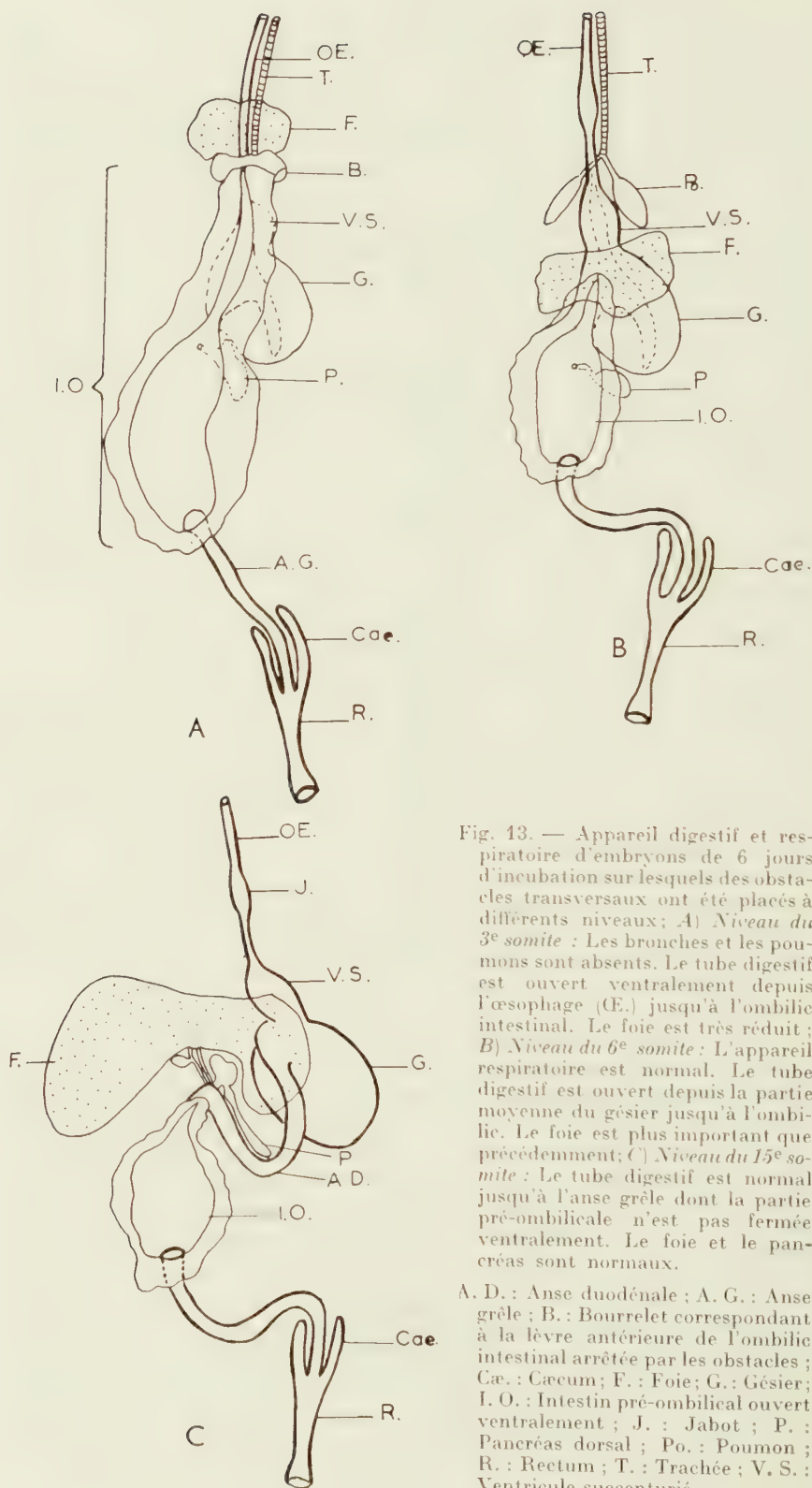


Fig. 13. — Appareil digestif et respiratoire d'embryons de 6 jours d'incubation sur lesquels des obstacles transversaux ont été placés à différents niveaux; A) Niveau du 3^e somite : Les bronches et les poumons sont absents. Le tube digestif est ouvert ventralement depuis l'oesophage (E.) jusqu'à l'ombilic intestinal. Le foie est très réduit; B) Niveau du 6^e somite : L'appareil respiratoire est normal. Le tube digestif est ouvert depuis la partie moyenne du gésier jusqu'à l'ombilic. Le foie est plus important que précédemment; C) Niveau du 15^e somite : Le tube digestif est normal jusqu'à l'anse grêle dont la partie pré-ombilicale n'est pas fermée ventralement. Le foie et le pancréas sont normaux.

A. D. : Anse duodénale; A. G. : Anse grêle; B. : Bourrelet correspondant à la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal arrêtée par les obstacles; Cae. : Cæcum; F. : Foie; G. : Gésier; I. O. : Intestin pré-ombilical ouvert ventralement; J. : Jabot; P. : Pancréas dorsal; Po. : Poumon; R. : Rectum; T. : Trachée; V. S. : Ventricle succenturié.

Le cœur reste en avant des obstacles, un bourrelet constitué par la splanchnopleure et la somatopleure est collé contre leur face crâniale et représente la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal qui n'a pas atteint sa position définitive.

L'œsophage et la trachée se sont constitués, par contre les poumons sont absents.

En arrière des obstacles, l'estomac (ventricule succenturié et gésier) se différencie, mais reste ouvert ventralement.

L'estomac est suivi par une sorte de plaque endomésodermique médiane présentant à partir de 12 à 13 jours les villosités épithéliales caractéristiques du duodénum et de l'intestin grêle. Cette plaque est assez large, mais très courte et elle présente deux invaginations dorsales successives qui représentent respectivement l'anse duodénale et l'anse grêle. Ces invaginations résultent d'une prolifération cellulaire intense localisée à ces niveaux et qui, dans l'organogenèse normale, aboutit à la formation des anses. La lèvre postérieure de l'ombilic intestinal est située plus en avant que lorsque le développement est normal à cause de l'allongement particulièrement faible de la partie antérieure de l'intestin. Ceci s'observe également chez les embryons Omphalocéphales (WOLFF, 1933 *a* et *b*) dont l'intestin antérieur reste ouvert ventralement sur toute sa longueur.

En ce qui concerne les glandes digestives, le foie, très réduit, est représenté seulement par un petit lobe hépatique situé en avant des obstacles et collé contre le sinus veineux. Le pancréas dorsal seul se différencie

TABLEAU IV

Évolution des organes de l'appareil respiratoire et de l'appareil digestif pré-ombilical lorsque des obstacles empêchent les mouvements morphogénétiques de s'accomplir normalement.

Niveau des obstacles	Organes atteints par l'intervention										
	Œs.	Tr.	Po.	V. S.	Gés.	A. D.	V. B.	P. D.	P. V.	A. G.	Foie
3 ^e somite (fig. 13 <i>a</i>)	N	N	O	An.	An.	An.	O	N	O	An.	très réduit
6 ^e somite (fig. 13 <i>b</i>)	N	N	N	N	An.	An.	O	N	O	An.	réduit
9 ^e somite	N	N	N	N	N	An.	O	N	O	An.	réduit
15 ^e somite (fig. 13 <i>c</i>)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	An.	normal

(Œs. : œsophage ; Tr. : trachée ; Po. : poumons ; V. S. : ventricule succenturié ; Gés. : gésier ; A. D. : anse duodénale ; V. B. : voies biliaires ; P. D. : pancréas dorsal ; P. V. : pancréas ventraux ; A. G. : anse grêle ; N : organe normal ; An. : organe anormal ; O : organe absent.

et est relié par un conduit unique à la région de l'endoderme digestif correspondant à l'anse duodénale.

L'absence de poumons chez ces animaux s'explique de la façon suivante : la trachée artère est arrêtée par les obstacles et en arrière d'eux les deux ailes du mésentère dorsal (dans lesquelles pénètrent et se ramifient les bronches) restent vides. La trachée qui n'a pas pu entrer en contact avec le blastème du mésenchyme pulmonaire ne s'est pas ramifiée en bronches et l'organogenèse des poumons a été empêchée.

L'ensemble des résultats obtenus dans les différentes séries expérimentales est résumé dans le tableau IV.

CONCLUSIONS

L'ensemble des expériences portant sur la localisation des territoires présomptifs de l'appareil digestif au stade de 9 à 25 somites et sur les mouvements morphogénétiques qui interviennent au cours de son organogenèse apporte les résultats suivants :

1° Chaque organe digestif a une partie de son territoire présomptif située dorsalement et une autre localisée dans l'aire embryonnaire latérale. Cette dernière partie est, au stade considéré, située crânialement par rapport à la fraction dorsale du territoire présomptif. De plus, dans la région latérale, les différentes potentialités histogénétiques ne sont pas échelonnées selon l'axe crânio-caudal comme elles le sont dans la région médio-dorsale. Le matériel ventral et antérieur vient s'ajouter au cours du développement au matériel endomésodermique médio-dorsal. Il effectue un mouvement antéro-postérieur et oblique vers la ligne médio-ventrale par rapport au matériel dorsal ; il est entraîné dans ce déplacement par le recul de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal. Ces mouvements ont la même direction que ceux décrits par BELLAIRS (1953 *b*) au cours des premiers stades de la formation du pharynx embryonnaire. Ils se poursuivent donc jusqu'à la fermeture complète de l'intestin pré-ombilical.

2° La réunion du matériel médio-dorsal et du matériel antéro-latéral semble nécessaire à la formation du tube digestif :

· L'inhibition de la descente du matériel antérieur empêche l'organogenèse de l'intestin de s'accomplir. La partie postérieure de l'ébauche ne se ferme pas en un tube.

Les radiodestructions qui respectent les parties antéro-latérales du territoire présomptif d'un organe sans respecter sa partie médio-dorsale ne permettent pas la formation, même rudimentaire, de cet organe. (Une irradiation entre le 7^e somite et la région terminale ne permet pas la formation d'un fragment de l'anse duodénale ni de l'anse grêle).

3° C'est essentiellement du matériel endomésodermique dorsal qui intervient dans l'organogenèse de l'œsophage et de l'estomac. Le matériel

antérieur ne fournit qu'une étroite bande médio-ventrale qui assure la fermeture du tube digestif à ce niveau.

L'apport de matériel antéro-latéral joue un grand rôle dans l'organogenèse de l'anse duodénale et de l'intestin grêle. Ainsi, l'inhibition des mouvements morphogénétiques affecte relativement peu la formation de l'estomac, mais beaucoup plus celle de l'intestin.

4° La lèvre antérieure de l'ombilic intestinal constitue une formation impaire et médiane qui assure l'incorporation des parties latérales de la splanchnopleure à l'intestin antérieur.

5° La séparation en deux parties antérieure et postérieure du territoire présomptif du foie empêche la partie postérieure de se différencier en tissu hépatique. Le problème soulevé par ce résultat sera étudié dans la deuxième partie de ce mémoire.

6° L'organogenèse des poumons ne peut s'accomplir que si le diverticule trachéal arrive au contact des blastèmes de mésenchyme pulmonaire. Ces derniers ont leur limite antérieure située approximativement au niveau du 3^e somite chez des embryons de 9 à 12 somites.

CHAPITRE III

LA RÉGULATION DE L'ESTOMAC APRÈS DESTRUCTION DE SON TERRITOIRE PRÉSOMPTIF

A. — Destruction du territoire présomptif de l'estomac.

Je me suis demandé si les territoires présomptifs de l'appareil digestif localisés chez des embryons de 9 à 15 somites étaient déjà complètement déterminés ou si des phénomènes de régulation pouvaient intervenir après la destruction sélective du territoire assurant normalement la formation d'un organe. J'ai choisi de détruire l'aire prospective de l'estomac parce que cet organe, bien défini anatomiquement, se prête mieux qu'une autre partie du tube digestif à une étude morphologique.

Comme cela a été décrit dans les chapitres précédents, les limites du territoire présomptif de l'estomac ont été localisées par plusieurs méthodes.

La méthode des marques de charbon a montré que ce territoire est compris entre les niveaux des 2^e et 8^e somites, chez les embryons de 9 à 15 somites. Il est en situation médio-dorsale et débordé légèrement à droite et à gauche la rangée des somites. Latéralement, on trouve, à ce même niveau transversal, des territoires qui fournissent les voies biliaires, une partie du foie, de l'anse duodénale et aussi de l'anse grêle (fig. 9).

Une série d'expériences de radiodestructions transversales (fig. 14) confirme la localisation de l'aire présomptive de l'estomac selon l'axe longitudinal de l'embryon.

Enfin, la méthode des obstacles transversaux montre que l'organo-génèse de l'estomac n'est pas perturbée lorsque l'intervention est pratiquée à un niveau postérieur au 8^e somite, ce qui est en accord avec les données établies précédemment. De plus, cette dernière méthode montre qu'une bande de territoire antérieur intervient dans la constitution de la paroi stomacale ventrale.

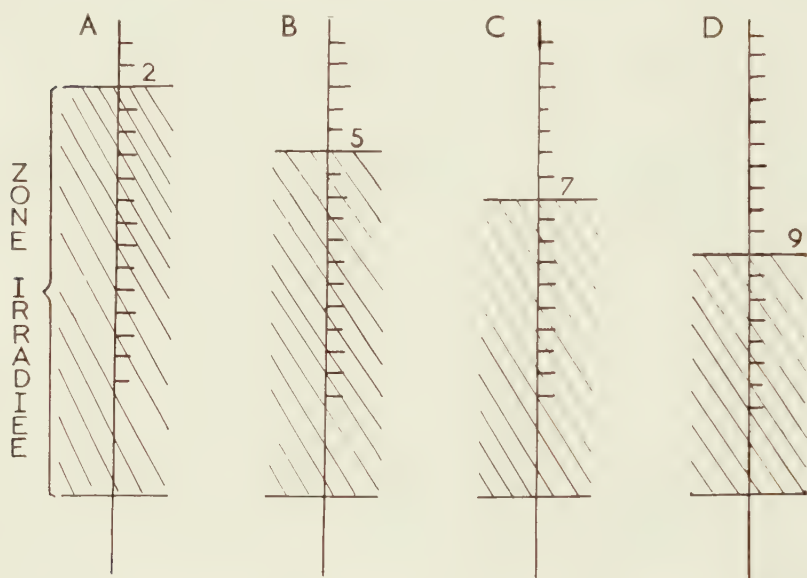


Fig. 14. — Schéma indiquant les résultats de l'irradiation de différents territoires embryonnaires sur l'organogénèse de l'estomac (Les chiffres 2, 5, 7 et 9 indiquent les niveaux somitiques). A : Pas d'estomac ; B : Estomac très réduit ; C : Estomac complet ; D : Estomac + partie antérieure de l'anse duodénale.

1^o Méthode utilisée.

Le territoire embryonnaire correspondant à l'estomac ne peut être enlevé chirurgicalement. Cela nécessiterait une section du système axial qui aurait pour effet la formation d'une plaie béante incompatible avec l'établissement d'une circulation dans l'aorte dorsale. C'est pourquoi j'ai utilisé la méthode des irradiations aux rayons X.

Le territoire irradié est plus étendu que l'ébauche présomptive de l'estomac et correspond à une bande transversale située entre les 2^e et 10^e somites au stade de 9 à 12 somites (fig. 15 a). Ainsi, outre l'ébauche de l'estomac, l'irradiation atteint une partie du territoire de l'anse duodénale, du foie et des voies biliaires. La dose administrée est de 10.000 r. Un contrôle histologique de la radiodestruction montre que

les tissus de la zone irradiée sont détruits et progressivement éliminés. Ceci permet le raccordement des deux parties saines, en particulier des aortes primitives. Le repli cardiaque descend normalement le long de l'axe embryonnaire et la fermeture ventrale de l'embryon peut s'effectuer. Le tissu irradié ne constitue pas un obstacle comme le fait un fragment de membrane coquillière.

2° Résultats.

Sur 70 embryons irradiés, 26 ont survécu au-delà du 7^e jour de l'incubation et ont été examinés.

L'embryon présente un cou de longueur réduite, mais une morphologie externe par ailleurs normale.

Bien que la radiosection pratiquée au stade de 9 à 12 somites ait été unique, le tube digestif est interrompu en deux points : au niveau de l'œsophage d'une part, de l'anse duodénale d'autre part (fig. 15 b).

L'œsophage est court, le jabot manque ; la trachée artère est constituée et peut parfois présenter un début de ramification en bronches, mais les poumons sont toujours absents.

Malgré la destruction du territoire embryonnaire qui le constitue normalement, l'estomac est présent et de forme normale. L'anse duodénale incomplète se termine en cul-de-sac et l'intestin reprend à l'anse grêle (fig. 15 c).

Les voies biliaires sont absentes (leur territoire présomptif ainsi que celui de la région de l'anse duodénale où elles se jettent ont été irradiés). Le foie est constitué d'un lobe droit prépondérant, tandis que le lobe gauche est très réduit. Il est généralement uni au tube digestif, soit au niveau de l'estomac, soit au niveau de l'anse duodénale, par une poche membraneuse. Le pancréas est légèrement réduit et établit parfois une sorte de pont entre les deux parties de l'intestin (fig. 15 b').

Il apparaît donc que l'estomac se forme chez ces embryons par un processus de régulation. Au contraire, le foie et l'anse duodénale sont incomplets, les voies biliaires sont absentes ; aucune régulation n'est intervenue pour ces organes.

B. — Territoire assurant la régulation.

Le territoire embryonnaire postérieur au 9^e somite a été marqué par des grains de charbon chez les animaux irradiés et chez les témoins.

1° Marquage médio-dorsal correspondant aux somites 10 à 13.

Chez des embryons de 9 à 13 somites, j'ai introduit une marque de charbon dans une fente pratiquée médio-dorsalement juste en arrière de la zone irradiée.

Le même niveau a été marqué dans une série d'embryons témoins.

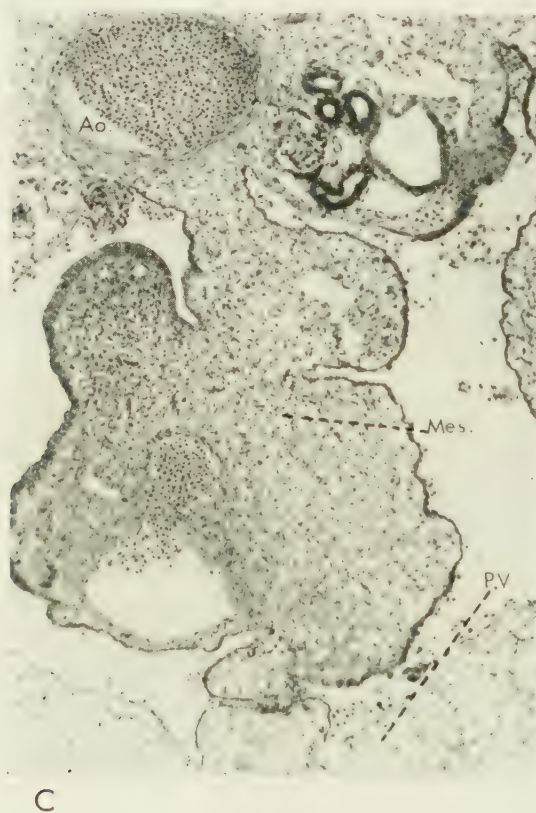
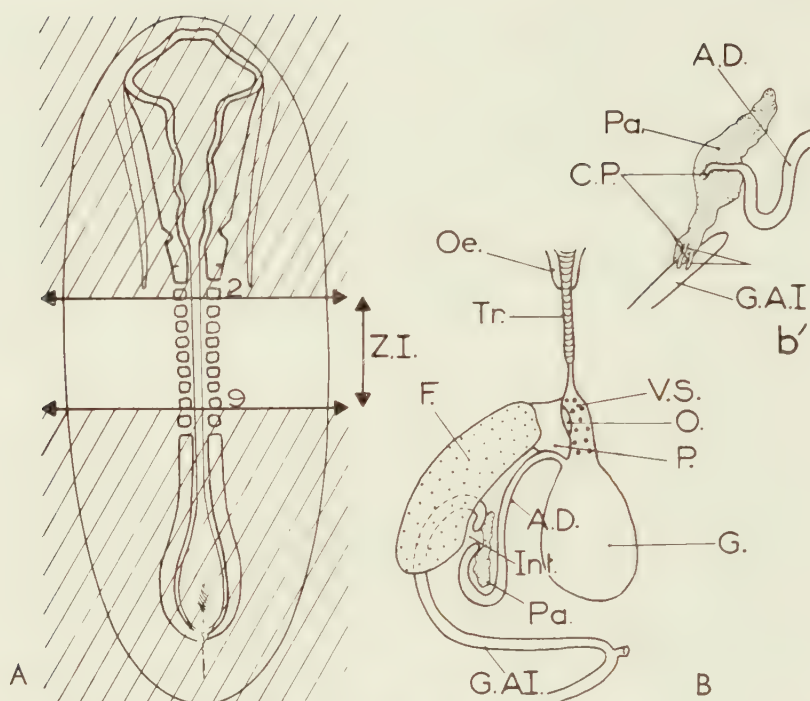


Fig. 15. — a) Schéma de l'irradiation d'un embryon de 10 somites entre les 2^e et 10^e somites. Z. I. : Zone irradiée; b) Effet de cette intervention sur l'appareil digestif et respiratoire (Dissection au 10^e jour de l'incubation); b') Détail de la région pancréatique: A. D. : Anse duodénale; C. P. : Conduits pancréatiques; F. : Foie; G. : Gésier; G. A. I. : Grande anse intestinale; Int. : Interruption de l'intestin entre l'anse duodénale et l'anse grêle; Oe. : Esoophage; P. : Poche membraneuse réunissant le foie au ventricule succenturié (V. S.); O. : Orifice d'écoulement de la bile dans le tube digestif; Pa. : Pancréas; Tr. : Trachée; c) Coupe transversale pratiquée chez un embryon de 5 jours d'incubation au niveau de l'interruption de l'anse duodénale. Le tube digestif est complètement absent à ce niveau.

Ao. : Aorte; Més. : Mésentère; P. V. : Parietale abdominale ventrale (Hémaréoxiline-Éosine, $\times 120$).

2° *Marquage latéro-dorsal correspondant aux somites 10 à 13.*

Dans cette série expérimentale, les marques ont été disposées le long du bord somitique droit chez des animaux irradiés et chez des témoins. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau V.

TABLEAU V

Organes digestifs atteints par des marques de charbon introduites dans le territoire dorsal correspondant aux somites 10 à 13 chez des embryons ayant subi une irradiation du territoire présomptif de l'estomac et chez des embryons témoins.

		Nombre de cas	Organes marqués (nombre de cas)			
			Estomac	Duodénum	Pancréas	Foie
Marquage médio-dorsal	Animaux irradiés	9	8	5	5	0
	Animaux témoins	10	0	10	10	0
Marquage latéro-dorsal	Animaux irradiés	8	6	8	7	8
	Animaux témoins	9	0	9	9	9

L'estomac n'est atteint par les grains de charbon placés dans le territoire postérieur au 9^e somite *que chez des embryons irradiés*. Dans ce cas, les marques sont principalement retenues par le ventricule succenturié et le gésier (fig. 16) mais on en trouve également dans l'anse duodénale. C'est donc la région située en arrière du niveau de l'irradiation qui assure la formation de l'estomac lorsque le territoire qui le constitue normalement est détruit. L'endomésoderme assurant la régulation de l'estomac chez les embryons irradiés contribue, dans le développement normal, à former l'anse duodénale et le pancréas dorsal. Au stade de 9 à 12 somites, sa détermination est encore labile.

C. — Limite postérieure du territoire pouvant assurer la régulation de l'estomac.

Pour savoir jusqu'à quel niveau de l'embryon la régulation de l'estomac reste possible, j'ai reculé la limite postérieure de l'irradiation jusqu'aux 13^e et 16^e somites.

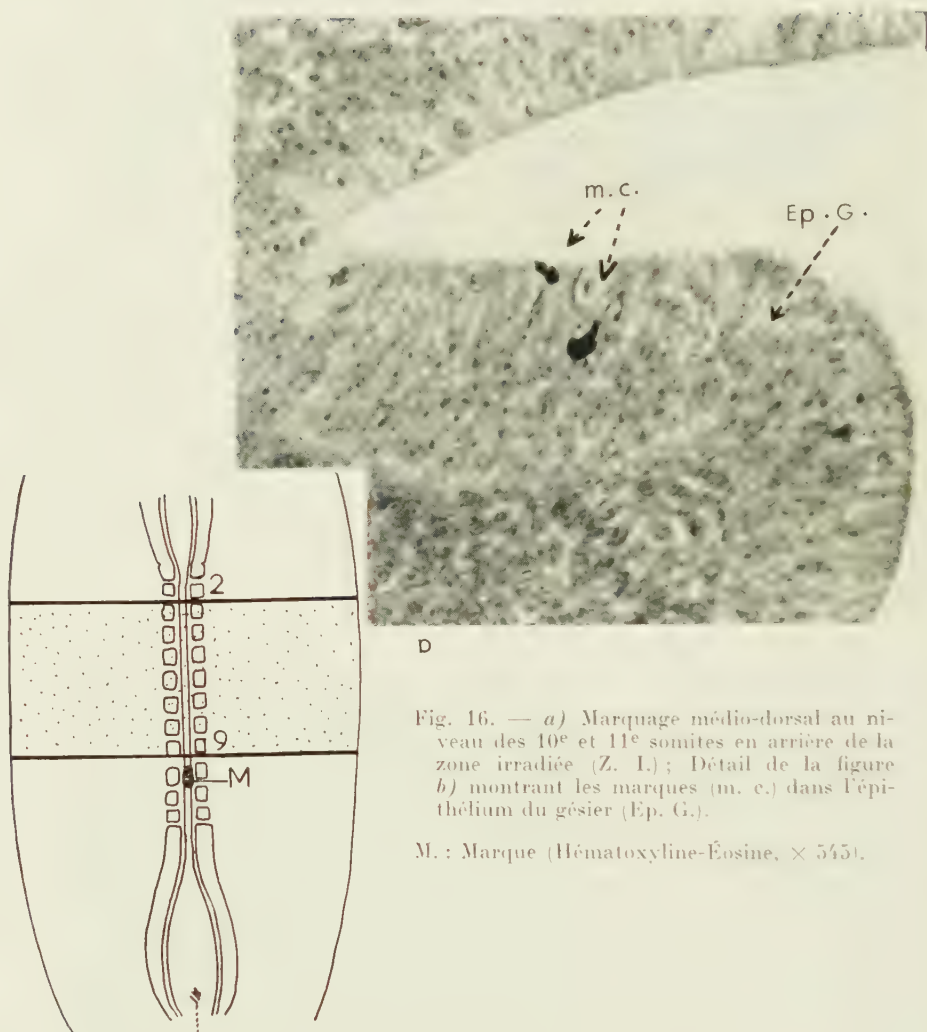


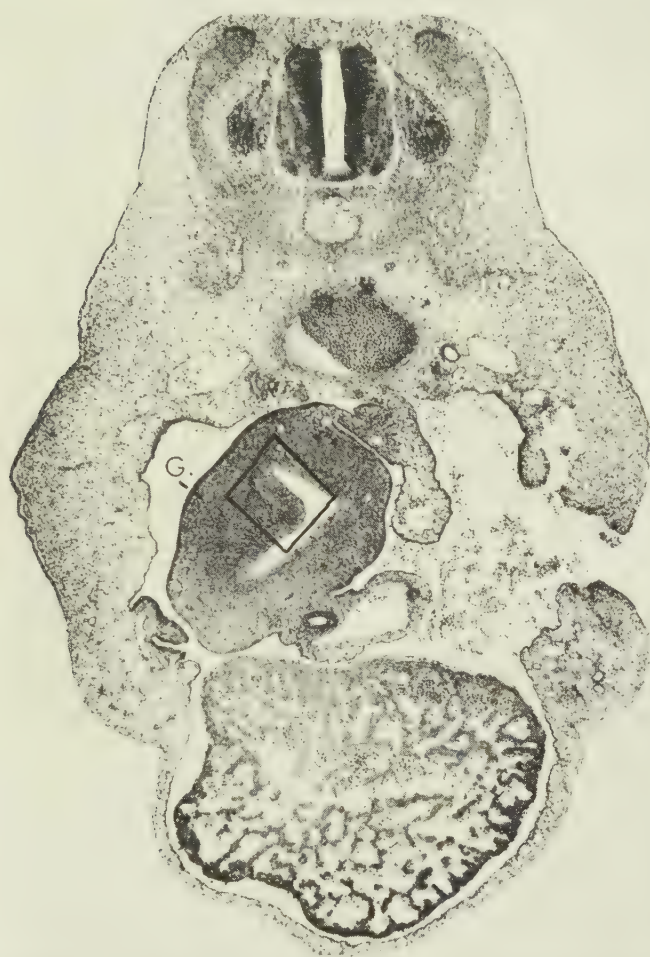
Fig. 16. — *a*) Marquage médio-dorsal au niveau des 10^e et 11^e somites en arrière de la zone irradiée (Z. I.); Détail de la figure *b*) montrant les marques (m. c.) dans l'épithélium du gésier (Ep. G.).

M.: Marque (Hématoxyline-Eosine, $\times 545$).

1^o Irradiation de la bande transversale de territoire embryonnaire correspondant aux somites 3 à 12.

Vingt embryons de 11 à 12 somites ont été irradiés à une dose de 10.000 r. Six ont survécu jusqu'au 17^e jour de l'incubation et ont pu être examinés.

Comme dans le cas où l'irradiation est plus limitée (entre les 2^e et 10^e somites), le tube digestif est sectionné en deux points. L'estomac et l'anse duodénale sont remplacés par une formation à paroi musculaire épaisse dont la morphologie est assez variable selon les cas et que l'on peut interpréter comme étant un gésier mal formé et très incomplet. Le ventri-



b

Fig. 16 b. — Coupe transversale au niveau du gésier (G), chez un embryon de cette série expérimentale à 5 jours d'incubation, $\times 30$.

cule succenturié et l'anse duodénale sont totalement absents. Un petit fragment de foie est relié à cette partie du tube digestif. L'anse grêle débute par un cul-de-sac. La figure 17 représente l'un des cas obtenus.

2° Irradiation de la bande transversale de territoire embryonnaire correspondant aux somites 3 à 15.

Le stade des embryons est de 12 à 13 somites et l'écran postérieur est placé au niveau présomptif d'apparition du 16^e somite. En effet, il est

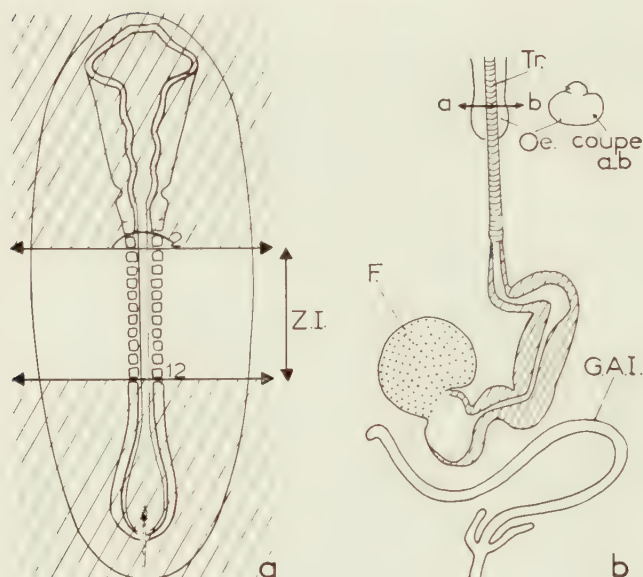


Fig. 17. — *a*) Schéma de l'irradiation entre les 2^e et 13^e somites (Z. I.: Zone irradiée);
b) Effet de cette irradiation sur l'appareil digestif et respiratoire.

Le tube digestif est interrompu à deux niveaux : au niveau de l'œsophage (Oe.) et de l'anse duodénale. La trachée (Tr.) est interrompue en avant des bronches et rattachée par du tissu conjonctif à une formation digestive à paroi épaisse évoquant un gésier mal formé et incomplet. Le foie (F.) est très réduit.

G. A. I. : Grande anse intestinale.

impossible d'utiliser des embryons de stade plus avancé chez lesquels le repli cardiaque a dépassé le niveau du 2^e somite.

Sur 25 embryons irradiés, 6 ont pu être examinés. Le tube digestif est interrompu entre l'œsophage et l'anse grêle. Un petit fragment de foie, correspondant à la partie de son territoire présomptif antérieure au 2^e somite, est venu se localiser à l'extrémité de l'œsophage, contre le sinus veineux.

CONCLUSIONS

On peut conclure que les potentialités organoformatrices de l'estomac sont réparties dans le blastoderme au stade de 10 à 15 somites dans la région dorsale correspondant aux somites 2 à 15 environ.

Dans le développement normal, seule la partie antérieure de ce territoire intervient dans la formation de cet organe. Mais, si elle est détruite, elle peut être remplacée par la zone située en arrière. Lorsque l'on détruit des parties de plus en plus étendues de ce territoire, le pouvoir de former

le ventricule succenturié et l'anse duodénale disparaît d'abord, tandis que subsiste celui de former le gésier. En arrière du 15^e somite, le territoire endomésodermique ne peut constituer aucune formation correspondant à l'intestin antérieur.

(La Bibliographie correspondant à cette première partie est reportée à la fin de la deuxième partie qui paraîtra dans le numéro suivant du *Bulletin Biologique*).

Laboratoire d'Embryologie Expérimentale
du Collège de France et du C. N. R. S.,
Directeur : Professeur ET. WOLFF.

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ORGANOGENÈSE DU TUBE DIGESTIF ET DU FOIE CHEZ L'EMBRYON DE POULET

II. — Étude expérimentale de l'organogenèse hépatique

SOMMAIRE

	Pages
II. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ORGANOGENÈSE HÉPATIQUE	
HISTORIQUE ET POSITION DU PROBLÈME	591
CHAPITRE PREMIER. — LES TERRITOIRES HÉPATIQUES PRÉSUMPTIFS ET LEURS POTENTIALITÉS CHEZ L'EMBRYON DE POULET DE 9 A 15 SOMITES . . .	593
A. — Localisation des territoires hépatiques chez l'embryon de 9 à 15 somites (p. 593).	
B. — Potentialités histogénétiques des différentes régions de l'aire hépatique (p. 594).	
1° Évolution en greffe cœlomique de différentes parties de l'aire hépatique présomptive (p. 595); 2° Isolement expérimental <i>in ovo</i> , de la partie postéro-latérale de l'aire hépatique présomptive (p. 596); 3° Évolution de la région postérieure de l'aire présomptive du foie isolée expérimentalement <i>in ovo</i> (p. 597).	
C. — Répartitions respectives des régions endodermique et mésoder- mique destinées à former le foie dans l'aire hépatique des embryons de 9 à 15 somites (p. 599).	
CHAPITRE II. — LES RELATIONS ÉPITHÉLIO-MÉSENCHYMEUSES DANS L'ORGANO- GENÈSE HÉPATIQUE	602
A. — Historique (p. 602).	
B. — Importance de l'ébauche mésodermique dans l'établissement du volume et de la forme du foie (p. 604).	
C. — Rôle du mésenchyme hépatique dans la différenciation et la mul- tiplication des cellules des bourgeons épithéliaux du foie (p. 605).	
1° Conditions particulières de cette étude dans le cas du foie (p. 605); 2° Méthodes utilisées (p. 606); a) Isolement de l'ébauche épithéliale du foie (p. 606); b) Greffe de l'épi- thélium hépatique <i>in ovo</i> (p. 607); c) Culture <i>in vitro</i> de bourgeons épithéliaux associés à divers mésenchymes (p. 607); 3° Évolution de l'épithélium hépatique privé de mésenchyme (p. 607); 4° Influence du mésenchyme propre du foie sur l'évolution des bourgeons épithéliaux (p. 608); a) <i>In ovo</i> (p. 608); b) <i>In vitro</i> (p. 613).	

D. — Étude de l'influence d'autres mésenchymes sur l'évolution des bourgeons épithéliaux du foie (p. 615).

- 1° Mésenchyme du bourgeon de membre (p. 615) ; 2° Mésenchyme céphalique (p. 615) ; 3° Mésenchyme somitique (p. 617) ; *a*) Association *in ovo* par la méthode des greffes (p. 617) ; *b*) Association en culture organotypique *in vitro* (p. 617) ; 4° Mésenchyme du mésonéphros (p. 618) ; *a*) Association *in ovo* par la méthode des greffes (p. 618) ; *b*) Association en culture organotypique *in vitro* (p. 620) ; 5° Mésenchymes péritonéaux et mésentériques (p. 620) ; *a*) Le mésenchyme pulmonaire (p. 621) ; *b*) Mésentère et paroi du tube digestif (p. 621) ; *c*) Feuillet cœlomique pariétal (p. 628).

CONCLUSIONS 632

CHAPITRE III — L'ORIGINE DE L'ENDOHELICIUM DES SINUS SANGUINS DU FOIE. 633

A. — Historique (p. 633).

B. — Rôle de la composante mésodermique du foie dans la formation des sinusoides (p. 634).

- 1° Caractères du mésenchyme hépatique isolé expérimentalement (p. 634) ; 2° Transformation et multiplication des cellules du mésenchyme hépatique sous l'influence des travées glandulaires du foie (p. 636).

C. — Formation de sinusoides dans des mésenchymes hétérologues sous l'influence des cordons hépatiques (p. 640).

CONCLUSIONS 642

CHAPITRE IV. — L'INDUCTION DE L'ENDODERME PRÉ-HÉPATIQUE PAR LE MÉSODERME DE L'AIRE CARDIAQUE 642

Rappel historique 643

A. — Association de l'endoderme présomptif du foie, prélevé à différents stades du développement, avec le mésenchyme hépatique (p. 644).

- 1° Endoderme hépatique prélevé aux stades de 5 à 16 somites (p. 644) ; 2° Endoderme des aires présomptives du foie, prélevé aux stades du prolongement céphalique et du repli céphalique transverse (p. 645).

B. — Action du mésoderme de l'aire cardiaque sur l'endoderme pré-hépatique (p. 647).

C. — Chronologie de l'induction de l'endoderme pré-hépatique par le mésoderme de l'aire cardiaque (p. 651).

- 1° La formation du repli cardiaque (p. 651) ; 2° Réunion sur la ligne médio-ventrale des deux primordia endodermiques du foie (p. 652) ; *a*) Marquage aux stades présomptiques (p. 652) ; *b*) Marquage aux stades de 2 à 4 somites (p. 653) ; 3° Les primordia endodermiques hépatiques sont-ils induits avant ou après leur réunion dans laèvre antérieure de l'ombilic intestinal ? (p. 653) ; 4° Évolution de l'induction primaire de l'endoderme hépatique (p. 655).

D. — Limites de l'endoderme capable de former du foie (p. 657).

E. — Destinée du mésoderme de l'aire cardiaque (p. 660).

CONCLUSIONS	662
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	662
RÉSUMÉ	668
BIBLIOGRAPHIE	671

HISTORIQUE ET POSITION DU PROBLÈME

Chez le Poulet, le foie est constitué d'un lobe gauche situé ventralement par rapport au proventricule et au gésier et d'un lobe droit un peu plus important et ventrolatéral par rapport à l'anse duodénale et au pancréas. Ces deux lobes sont réunis par une partie médiane plus réduite. Les deux conduits biliaires aboutissent dans l'anse duodénale à l'endroit de la courbure assurant sa jonction avec l'iléon. Le canal hépato-entérique joint le lobe gauche du foie au duodénum. Le conduit du lobe droit porte la vésicule biliaire et est ainsi divisé en deux parties, hépato-cystique et cysto-entérique.

L'organogenèse du foie a fait l'objet de nombreux travaux entre les années 1860 et 1910. Les méthodes utilisées par les auteurs consistaient, comme pour la plupart des travaux d'embryologie de cette époque, en l'examen de coupes histologiques sériées pratiquées chez des embryons de stades très rapprochés. La reconstitution des structures se faisait, à partir de l'examen des coupes, en particulier par la méthode de BORN (1888). Des descriptions extrêmement précises et fidèles ont ainsi été faites de l'embryologie topographique des organes.

Quelques recherches plus récentes ont complété ces travaux.

La première ébauche hépatique visible apparaît chez l'embryon de Poulet à la fin du 2^e jour de l'incubation, entre les stades de 20 à 23 somites. Elle est constituée par une évagination de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal dans la mince couche de mésenchyme entourant le sinus veineux. Elle a été décrite à ce stade par HAMMAR (1897), BROUHA (1898 *a*, 1898 *b*), CHORONSHITZKY (1900), KEIBEL et ABRAHAM (1900) et plus récemment par KINGSBURY, ALEXANDERSON et KORNSTEIN (1956) qui pensent l'avoir vue dans certains cas dès le stade de 16 somites. A partir de cette évagination primaire qui affecte la forme d'une gouttière (*Leberfalte* de HAMMAR, 1897; *gouttière hépatique* de BROUHA, 1898 *b*), il se forme, quelques heures après, deux diverticules, l'un crânial et dorsal, l'autre caudal et ventral, entre lesquels se trouve le *ductus venosus* formé par la réunion des deux veines omphalo-mésentériques (SHORE, 1891; FELIX, 1892; HAMMAR, 1893 et 1897; BROUHA, 1898 *b*; CHORONSHITZKY, 1900; HILDEBRANDT, 1902) (le *ductus venosus* est aussi appelé veine omphalo-mésentérique commune (CHORONSHITZKY) ou méat veineux (BROUHA); il se prolonge crânialement par le sinus veineux).

Rapidement, ces deux bourgeons hépatiques s'accroissent et, au cours de la première partie du 3^e jour de l'incubation, ils émettent des cordons de cellules hépatiques qui envahissent le mésenchyme du *septum transversum*. Selon FELIX (1892), HAMMAR (1893), BROUHA (1898), SHORE (1891), puis ELIAS (1955), pendant le 3^e et le 4^e jour de l'incubation, les deux bourgeons hépatiques appliqués l'un sur la face dorsale, l'autre sur la face ventrale du *ductus venosus*, prolifèrent, s'anastomosent et constituent une gaine cylindrique de tissu hépatique qui atteint la partie inférieure du sinus veineux. Le lobe droit du foie dérive essentiellement du diverticule caudal (BROUHA, 1898 *b*).

Les travées de cellules hépatiques suivent le trajet de la veine omphalo-mésentérique droite dont le diamètre est supérieur à celui de la veine controlatérale. Vers la fin du 3^e jour de l'incubation, s'est formé le premier anneau veineux péri-intestinal constitué par une anastomose dorsale des deux veines omphalo-mésentériques (HOCHSTETTER, 1888). La partie gauche de cet anneau s'atrophiant, l'an-

cienne anastomose dorsale et le segment de la veine omphalo-mésentérique situé en avant d'elle constituent la partie crâniale de la veine porte hépatique. Au niveau de l'ancienne anastomose, le lobe droit du foie abandonne le trajet de la veine et fait saillie vers l'arrière dans la partie droite de la cavité abdominale. Il s'y développe d'une façon importante du 4^e au 7^e jour de l'incubation.

Le lobe gauche, appelé par БРОУНА (1898 b) portion antérieure du foie, se développe pendant le 4^e jour de l'incubation à partir de ce qui était le diverticule crânial. Son évolution est liée à celle de la veine ombilicale gauche. Dans les jeunes stades du développement (45 à 52 heures), la séparation entre les cavités pleuro-péritonéale et péricardique est constituée uniquement par les mésocardes latéraux. Ceux-ci constituent une cloison dans l'épaisseur de laquelle se trouvent les canaux de Cuvier qui se jettent dans le sinus veineux. Par l'intermédiaire des canaux de Cuvier, le sinus veineux reçoit les veines de la paroi du corps qui sont, les veines jugulaires en avant et en arrière, un réseau veineux pariétal dans lequel s'individualisent ensuite les veines cardinales et les veines ombilicales. Ces dernières aboutissent bientôt directement dans le sinus veineux (72 heures) et perdent progressivement tout contact avec les canaux de Cuvier (БРОУНА, 1898 b). A ce moment, le lobe gauche du foie commence à se développer autour de la veine ombilicale. Bien irrigué, il se développe rapidement et atteint la paroi gauche du corps au début du 5^e jour de l'incubation.

La portion médiane du foie, reliant les deux lobes est transversale, car elle se développe dans le tissu même du *septum transversum*.

Dès la constitution d'un manchon de tissu hépatique autour du *ductus venosus* (début du 3^e jour de l'incubation), on peut voir que des capillaires sont émis vers le tissu hépatique (CHORONSHITZKY, 1900 ; GOETTE, 1867 ; SHORE, 1891 ; FROBEN, 1892 ; HAMMAR, 1893 ; MINOT, 1900 b). Pendant les 5^e et 6^e jours, le *ductus venosus* donne des branches hépatiques de plus en plus nombreuses et finalement disparaît à la fin du 7^e jour. L'évolution des parties intra-hépatiques des veines omphalo-mésentérique et ombilicale est la même : elles se ramifient et perdent leur individualité à l'intérieur de la masse du foie.

Le foie, dans sa région moyenne, occupe toute la largeur de la cavité péritonéale. Il est rattaché à la paroi dorsale de la cavité coelomique par la cloison mésentérique médiane qui donnera le ligament hépato-entérique ou mésogastre ventral. D'autre part, il est relié aux prolongements latéraux du mésentère par les mésos latéraux. En avant, le ligament primaire ventral du foie le rattache à la paroi abdominale.

Les travaux rappelés ci-dessus concernent l'évolution du foie depuis l'apparition de la première invagination de l'endoderme du repli cardiaque jusqu'à la réalisation de la forme à peu près définitive de l'organe. Certains auteurs ont cherché à voir si, avant le début de l'organogenèse hépatique, on pouvait trouver dans les cellules de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal les caractéristiques des futures cellules de l'ébauche endodermique du foie.

LUDWIG (1919) étudie chez l'embryon de Canard les cellules des jeunes bourgeons hépatiques. Elles sont plus colorables, plus cohérentes et ont un cytoplasme moins vacuolaire que les cellules endodermiques avoisinantes. Cet auteur pense voir la première indication de l'ébauche du foie chez des embryons de 5 à 6 somites. Cette région hépatique présomptive présente des limites peu nettes et ses cellules se confondent sur ses bords avec celles de l'endoderme digestif et vitellin. L'ébauche du foie et celle du pancréas constituent à un stade plus avancé du développement un anneau de cellules différentes de celles de l'endoderme digestif, disposé obliquement dans la partie antérieure de l'endoderme embryonnaire : anneau hépato-pancréatique de WEBER (1903).

Bien que dans la plupart des espèces, le foie apparaisse dès le début de son développement comme un organe impair médio-ventral, certains embryologistes ont depuis longtemps soupçonné son origine double.

His (1874) considérait déjà que le blastoderme dès un stade très précoce du développement, alors qu'il est encore plat, est constitué d'une mosaïque de territoires distincts quant à leur destinée. Selon lui, les ébauches des futurs organes dorsaux sont situées sur la ligne médiane du blastoderme, tandis que les organes ventraux sont formés de la réunion sur la ligne médiane de deux ébauches latérales. Les spéculations de His ont été confirmées dans le cas du foie et de bien d'autres organes.

La bilatéralité originelle de l'ébauche du foie est quelquefois apparente (KEIBEL, 1901 ; HILDEBRANDT, 1902 ; LUDWIG, 1919) au début du développement de l'organe. L'étude de certaines malformations, en particulier l'omphalocéphalie (WOLFF, 1933 *a* et *b*), montre que cette bilatéralité peut persister lorsque certaines anomalies du développement empêchent la soudure ventrale des deux ébauches.

Enfin, de nombreux auteurs, étudiant les potentialités histogénétiques des différentes régions du blastoderme d'Oiseau par le moyen des greffes chorio-allantoïdiennes, ont vérifié expérimentalement les idées de HIS.

Au stade de la ligne primitive définitive, RUDNICK (1932) montre que les potentialités à former du foie sont réparties dans la moitié antérieure du blastoderme, aussi bien sur la ligne médiane que dans les parties latérales. Mais, au stade du prolongement céphalique, ces potentialités se trouvent désormais limitées aux régions latérales antérieures. Dans une étude plus précise, réalisée en explantant des petits fragments de la région antérieure du blastoderme au stade du prolongement céphalique, RAWLES (1936) délimite les aires hépatiques présomptives bilatérales.

Le développement du foie, depuis la formation des bourgeons endodermiques jusqu'à la réalisation de la forme définitive de l'organe, a donc fait l'objet d'études descriptives très précises. Certains auteurs ont reconnu avant la première manifestation de l'organogenèse du foie l'ébauche endodermique présomptive. Enfin, à des stades très précoces du développement, on a montré que les potentialités histogénétiques hépatiques, primitivement répandues largement dans toute la partie antérieure du blastoderme, se restreignent dans leur étendue et se localisent en deux aires latérales correspondant d'ailleurs à celles du cœur.

Je me suis proposé de suivre l'évolution de ces aires présomptives bilatérales depuis les stades précoces où elles ont été localisées jusqu'à la formation des bourgeons hépatiques et la constitution de l'organe définitif. J'ai recherché par des méthodes expérimentales si, au cours du développement du foie, il était possible de mettre en évidence des mécanismes d'interactions tissulaires, mécanismes qui, on le sait, jouent un rôle déterminant dans l'évolution de nombreuses ébauches embryonnaires.

CHAPITRE PREMIER

LES TERRITOIRES HÉPATIQUES PRÉSOMPTIFS ET LEURS POTENTIALITÉS CHEZ L'EMBRYON DE POULET DE 9 A 15 SOMITES

A. — Localisation des territoires hépatiques chez l'embryon de 9 à 15 somites.

La carte des ébauches présomptives de l'appareil digestif a été établie dans la première partie de ce mémoire à partir des résultats d'expériences de radiodestructions aux rayons X et de marquages au charbon. Elle montre que les territoires hépatiques sont situés de part et d'autre de l'axe somitique. Ils dépassent vers l'avant le niveau du 2^e somite et leur limite postérieure atteint environ celui du 15^e somite. Ces deux aires latérales sont réunies ventralement dans la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal. La zone endomésodermique médiane qui s'étend sous les rangées de somites et le tube nerveux ne participe pas à la formation du foie.

Il est possible d'introduire des marques de charbon à différents niveaux

de l'aire hépatique. Selon l'endroit où elles sont placées à un stade précoce du développement, ces marques sont ultérieurement retrouvées à des emplacements différents dans les lobes du foie. Des grains de charbon animal agglomérés par de l'albumine introduits dans la lèvres antérieure de l'ombilic intestinal au stade de 9 à 15 somites se retrouvent dans la région médio-ventrale du foie, alors que des marques placées dans le territoire présomptif latéral droit se localisent dans le lobe droit (fig. 18).

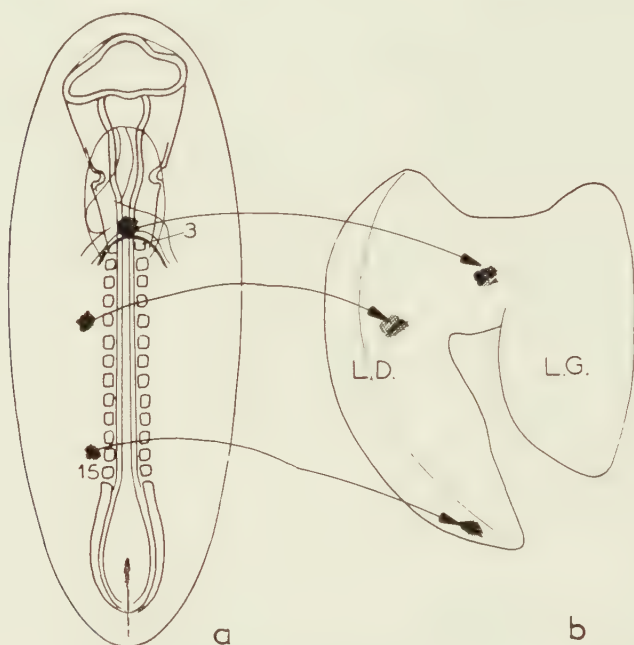


Fig. 18. — *a*) Embryon de Poulet de 15 somites représenté sur la face ventrale. Des marques de charbon ont été insérées dans les trois feuillets embryonnaires au niveau du repli cardiaque et en deux points de l'aire latérale droite. 3 : 3^e somite ; *b*) Au 8^e jour de l'incubation, ces marques se retrouvent respectivement dans la partie médiane et dans le lobe droit du foie. La marque la plus caudale atteint la partie tout à fait terminale du lobe droit (L. D.).

L. G. : Lobe gauche.

B. — Potentialités histogénétiques des différentes régions de l'aire hépatique.

A un stade très précoce du développement (stade du prolongement céphalique), les aires hépatiques localisées et étudiées par RAWLES (1936) possèdent des potentialités histogénétiques réparties de façon à peu près uniforme dans tout le territoire considéré. Il était intéressant de rechercher si cette caractéristique était ou non conservée à un stade plus avancé du développement.

*1^o Évolution en greffe cœlomique
de différentes parties de l'aire hépatique présomptive.*

La méthode utilisée a consisté à greffer dans le cœlome d'embryons de Poulet de 3 jours d'incubation différents fragments des aires hépatiques prélevés chez des embryons de 6 à 15 somites. L'évolution de ces fragments a été étudiée après 10 jours de greffe. Trois types de fragments ont été distingués (fig. 19).

— Le *fragment A* comprend la totalité de l'aire hépatique, c'est-à-dire les deux bandes latérales et le repli cardiaque.

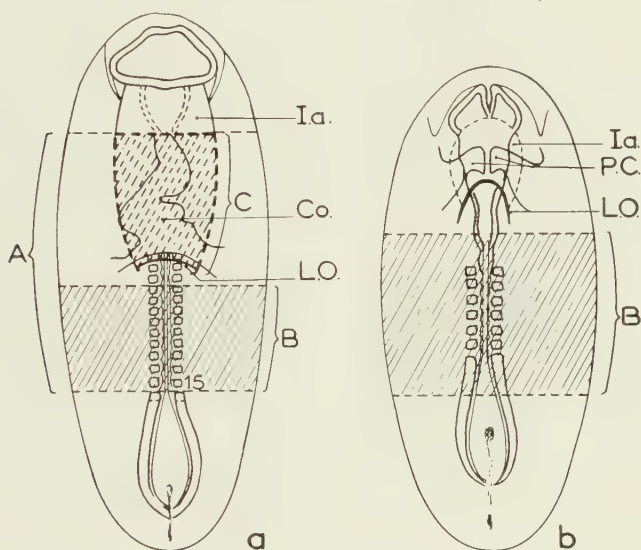


Fig. 19. — *a*) Embryon de 15 somites en vue ventrale. Le territoire hépatique présomptif a été découpé en différents fragments. Le fragment A comprend la totalité de l'aire hépatique. Le fragment B comprend les régions de l'aire hépatique postérieures au repli cardiaque. Le fragment C comprend le repli cardiaque seul ; *b*) Embryon de 6 somites sur lequel sont représentées les limites du fragment B aux jeunes stades.

Co. : Cœur ; I. a. : Intestin antérieur ; L. O. : Lèvre antérieure de l'ombilic intestinal ; P. C. : Primordia cardiaques.

— Le *fragment B* comporte toute la région de l'aire hépatique postérieure au repli cardiaque. La limite antérieure de ce fragment varie par conséquent avec l'âge de l'embryon, selon le niveau atteint par la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal au cours de son déplacement crânio-caudal.

— Le *fragment C* est formé par le repli cardiaque seul, isolé des zones latérales.

Le tableau VI indique les résultats obtenus pour ces trois types de greffons.

On voit que seules les parties de l'aire hépatique présomptive comprenant le repli cardiaque peuvent fournir une histogenèse hépatique lorsqu'elles sont isolées en greffe coelomique. Les aires latérales greffées seules n'évoluent jamais en tissu hépatique, tandis qu'au contraire le repli cardiaque isolé des aires latérales donne un ou deux lobules de foie bien différenciés.

TABLEAU VI
*Évolution en greffe coelomique
de différentes parties de l'aire hépatique.*

Fragment greffé	Stade du donneur (Nombre de somites)	Nombre de greffons observés	Différenciation hépatique (Nombre de cas)
A	10 à 15	8	8
B	9 à 15	30	0
C	6 à 15	15	13

On peut donc conclure que chez l'embryon de 6 à 15 somites le territoire hépatique n'est plus homogène en ce qui concerne ses potentialités histogénétiques : l'évolution des parties latéro-postérieures de ce territoire est conditionnée par la présence de la région antérieure, tandis que la relation inverse n'existe pas.

Il a paru intéressant d'isoler expérimentalement *in ovo* les parties postéro-latérales de l'aire hépatique de la partie antérieure et d'étudier comment elles évoluent dans ces conditions.

*2° Isolement expérimental, in ovo,
de la partie postéro-latérale de l'aire hépatique présomptive.*

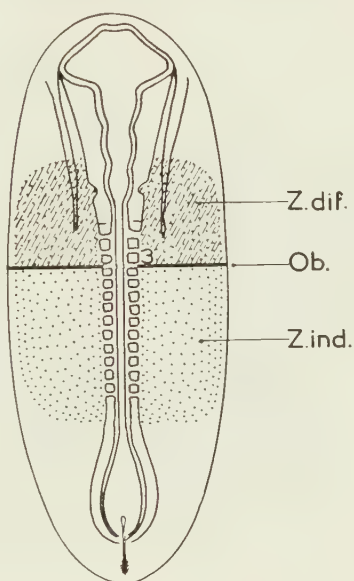
Les embryons utilisés dans cette série expérimentale ont de 9 à 13 somites. Une fente transversale est pratiquée à un niveau déterminé de l'aire hépatique de part et d'autre de l'axe embryonnaire, depuis un espace inter-somitique jusqu'à l'aire opaque. Un obstacle mécanique constitué par un fragment rectangulaire de membrane coquillière — est inséré dans chacune de ces fentes (fig. 20). Les résultats sont étudiés à partir du 5^e jour de l'incubation. Comme je l'ai indiqué précédemment, les mouvements morphogénétiques assurant la fermeture ventrale du corps de l'embryon sont arrêtés par les obstacles qui constituent une barrière que le repli cardiaque ne peut pas franchir. En arrière d'eux, le tube digestif reste ouvert ventralement et seuls les dérivés dorsaux

de l'endoderme se différencient. Le foie ne se développe qu'en avant des obstacles. Ainsi la quantité de tissu hépatique obtenue est d'autant plus importante qu'ils ont été placés plus en arrière. Si l'intervention est pratiquée en arrière du niveau du 15^e somite, le foie présente un développement normal, ce qui est en accord avec les données précédemment établies. Au contraire, lorsque les obstacles sont situés entre les niveaux des 2^e et 6^e somites, le foie est réduit à un petit lobule unique et médian, en rapport étroit avec le sinus veineux.

Si on place un obstacle d'un seul côté de l'embryon, la fermeture ventrale du corps ne s'effectue pas et l'évolution du tube digestif est la même que

Fig. 20. — Embryon de 13 somites sur lequel ont été placés des obstacles transversaux au niveau de la 3^e paire de somites. Le foie ne se différencie qu'en avant des obstacles.

Ob. : Obstacle ; Z. dif. : Zone où le foie se différencie ; Z. ind. : Zone du territoire hépatique où le foie ne se différencie pas.



si l'intervention est bilatérale. Cependant du côté non opéré, un lobe de foie se constitue dans la cavité coelomique.

Ces résultats confirment les conclusions tirées des expériences précédentes en montrant que les régions latérales du territoire hépatique présomptif sont incapables de fournir du foie lorsqu'elles sont isolées de la région antérieure située dans le repli cardiaque. La méthode des obstacles mécaniques permet de plus d'étudier l'évolution de la région postérieure de l'aire hépatique ainsi isolée.

3^o Évolution de la région postérieure de l'aire présomptive du foie isolée expérimentalement, *in ovo*.

Des coupes histologiques transversales ont été pratiquées aux 5^e et 7^e jours de l'incubation en arrière des obstacles. La figure 21 montre les résultats obtenus si on place les obstacles au niveau du 3^e somite. Le

gésier est resté ouvert ventralement mais est différencié : l'épithélium a un aspect caractéristique et la couche mésenchymateuse est épaisse. Latéralement l'endoderme est constitué par des cellules épithéliales plates restées indifférenciées. D'autre part, on remarque dans les cavités coelomiques deux masses mésenchymateuses limitées par un épithélium épais (fig. 22) constituant des expansions latérales du mésentère et unies par endroits à la paroi du corps.

La disposition anatomique de ces deux formations mésenchymateuses permet de les homologuer au prolongement caudal du *septum transversum* de His (*massa transversa* de USKOW, 1883, ou *mésocarde latéral* de KÖLLIKER, 1879). Dans l'organogenèse normale, lorsque la fermeture ventrale de l'embryon s'accomplit elles fusionnent ventralement avec le matériel

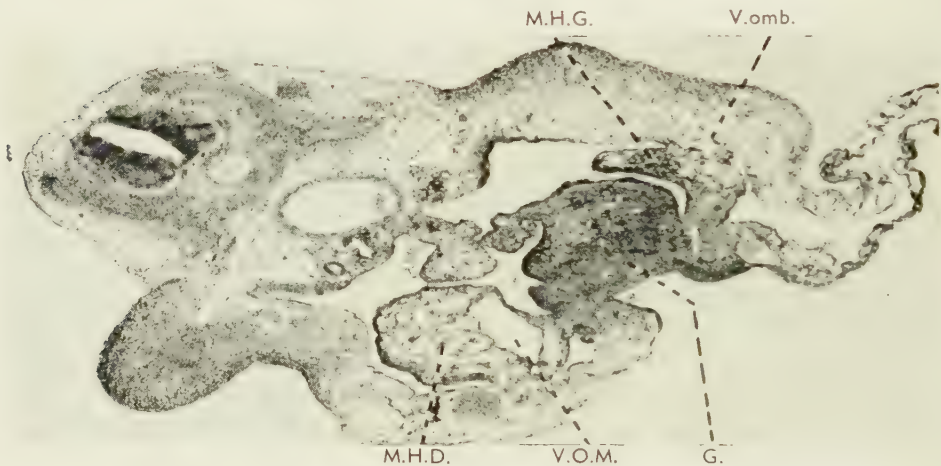


Fig. 21. — Coupe transversale d'un embryon de 5 jours d'incubation. Des obstacles ont été placés au niveau du 3^e somite et ont empêché la fermeture ventrale du corps. La coupe passe au niveau du gésier (G.) qui est resté ouvert ventralement. Dans les cavités coelomiques on voit deux formations mésenchymateuses entourant la veine omphalo-mésentérique (V. O. M.) à droite et ombilicale (V. omb.) à gauche. Elles constituent les ébauches mésenchymateuses des lobes droit et gauche du foie.

M. H. D.-M. H. G. : Mésenchyme hépatique droit et gauche (Hématoxyline-Éosine, 200).

mésenchymateux apporté par le repli cardiaque au cours de sa descente (mésentère ventral). Par conséquent, tandis que le mésenchyme apporté par le repli cardiaque fournit l'armature mésenchymateuse de la partie médiane du foie, ce qui est en accord avec les résultats des marquages au charbon, les deux expansions mésenchymateuses du mésentère qui ont été observées donnent le mésenchyme des lobes droit et gauche. Ceci est confirmé par l'observation attentive de ces formations chez un embryon de 5 jours d'incubation. A gauche, la masse mésenchymateuse est plus crâniale qu'à droite et suit le trajet de la veine ombilicale ; à droite,

l'ébauche est plus importante, plus caudale et suit pendant une partie de son trajet la veine omphalo-mésentérique pour s'en détacher vers l'arrière et constituer un lobe indépendant dans le cœlome. Ces données sont tout à fait en accord avec la description du développement des lobes droit et gauche du foie faite en particulier par BROUHA (1898 *b*) et exposée précédemment.

La méthode des obstacles placés transversalement dans l'aire hépatique présomptive permet ainsi d'isoler expérimentalement sur l'animal lui-même le *mésenchyme propre du foie*.

On voit que, lorsqu'elle est isolée par un obstacle mécanique de la région antérieure de l'aire hépatique présomptive, la partie postérieure de cette

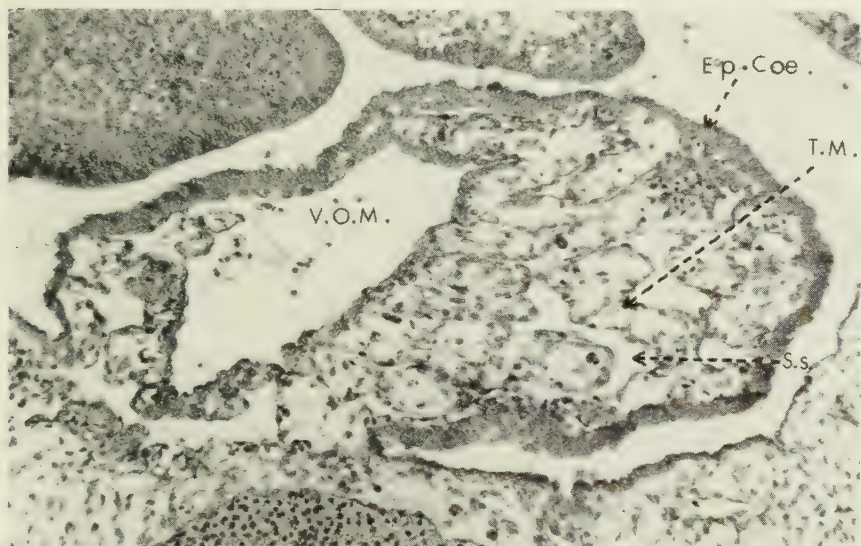


Fig. 22. — Détail du mésenchyme hépatique.

Ep. Coe. : Épithélium cœlomique ; T. M. : Travées mésenchymateuses ; S. s. : Sinus sanguins ; V. O. M. : Veine omphalo-mésentérique (Hématoxyline-Eosine, $\times 160$).

aire n'est constituée que de l'une des composantes du foie : la composante mésodermique. La partie antérieure, au contraire, qui est restée en relation avec le repli cardiaque, produit du tissu hépatique formé à la fois de mésenchyme et des cordons épithéliaux endodermiques.

C. — Répartitions respectives des régions endodermique et mésodermique destinées à former le foie dans l'aire hépatique des embryons de 9 à 15 somites.

Les obstacles transversaux placés au niveau de l'aire hépatique présomptive divisent cette dernière en deux parties, antérieure et postérieure. Dans la partie située en avant des obstacles, les bourgeons hépatiques

apparaissent au stade de 21 somites environ, comme chez l'embryon normal, au niveau de l'angle de réflexion de l'endoderme du repli cardiaque. Ultérieurement, ces bourgeons se développent dans le mésenchyme des villosités mésodermiques qui constituent la partie du *septum transversum* située au niveau du sinus veineux. Ils forment alors des cordons épithéliaux qui envahissent et colonisent tout le mésenchyme hépatique situé en avant des obstacles. Leur progression vers l'arrière étant arrêtée, le mésenchyme situé postérieurement reste vide de cordons épithéliaux.

Dans l'organogenèse normale, en même temps que les bourgeons épithéliaux prolifèrent en formant des cordons de cellules hépatiques, la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal recule le long de l'axe crânio-caudal de l'embryon, ce qui assure la colonisation des régions postérieures du mésenchyme hépatique par la composante endodermique du foie. Cependant, les mouvements morphogénétiques se traduisant par le recul de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal ne sont pas indispensables à la colonisation de la partie postérieure du mésenchyme hépatique par les bourgeons épithéliaux. En effet, lorsque l'on place un obstacle d'un seul côté de l'embryon, le recul de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal est arrêté et cependant un lobe de foie tout à fait normal se constitue du côté de l'embryon où il n'a pas été posé d'obstacle. Du côté non opéré, les bourgeons épithéliaux ont proliféré de telle sorte qu'ils ont colonisé tout le mésenchyme hépatique malgré l'arrêt des mouvements morphogénétiques du repli cardiaque.

Il faut d'autre part remarquer ici l'analogie qui existe entre les anomalies de l'hépatogenèse provoquées par l'intervention expérimentale décrite et le cas d'une monstruosité naturelle, l'omphalocéphalie, reproduite et analysée par Et. WOLFF (1933 *a* et *b*). Dans le cas des Omphalocéphales, l'extrémité céphalique, au lieu de s'élever au-dessus du blastoderme à un stade précoce du développement, s'enfonce au contraire et fait hernie dans la cavité sous-germinale, empêchant ainsi le recul du repli cardiaque. Le cœur reste situé en avant de la tête et l'embryon reste ouvert ventralement jusqu'à l'ombilic. Chez ces animaux, les bourgeons épithéliaux du foie apparaissent et colonisent les deux ébauches hépatiques mésodermiques situées bilatéralement dans les deux cavités cœlomiques droite et gauche. La tête de l'embryon ayant empêché le recul du repli cardiaque et la fermeture ventrale du corps, ces deux ébauches mésodermiques n'ont pas fusionné et sont restées latérales. Toutefois, rien n'en a empêché la colonisation par les cordons épithéliaux du foie ; le même phénomène s'observe du côté non opéré lorsqu'on place un obstacle unilatéralement.

En conclusion, il apparaît que, chez l'embryon de Poulet, aux stades de 9 à 15 somites, l'endoderme et le mésoderme présomptifs du foie n'ont pas la même répartition spatiale. Le mésoderme s'étend jusqu'au 15^e somite environ sous forme de deux aires latérales appartenant au mésoderme splanchnique et réunies ventralement au niveau du repli cardiaque. L'endoderme est localisé dans la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal

à l'angle de réflexion de l'endoderme pharyngien et extra-embryonnaire. L'aire endodermique, beaucoup plus réduite que celle du mésoderme présomptif, ne dépasse pas les limites du pli lui-même.

La figure 23 schématise la répartition des territoires hépatiques endodermique et mésodermique chez l'embryon de Poulet de 15 somites.

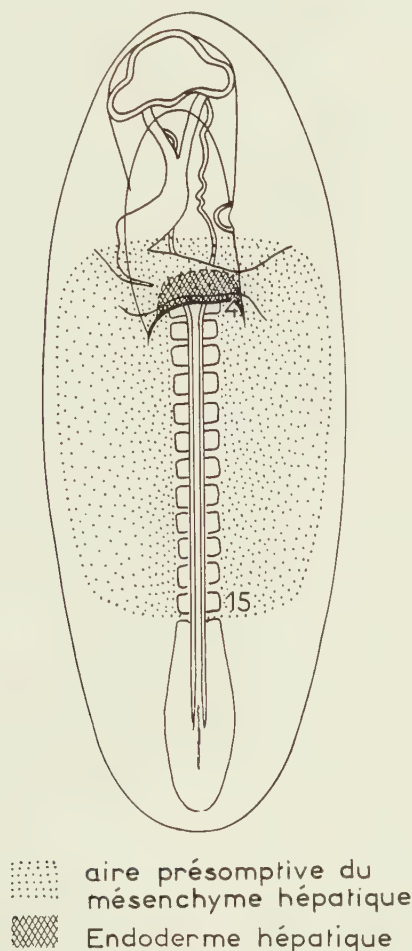


Fig. 23. — Répartition des territoires hépatiques endodermique et mésodermique chez un embryon de Poulet de 15 somites. L'embryon est représenté sur la face ventrale, on voit que l'endoderme présomptif du foie est localisé dans la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal.

L'envahissement de la composante mésodermique par l'ébauche épithéliale est donc à rapprocher de ce que j'ai mis en évidence dans le cas de l'organogenèse du poumon.

CHAPITRE II

LES RELATIONS ÉPITHÉLIO-MÉSENCHYMATEUSES
DANS L'ORGANOGENÈSE HÉPATIQUE

A. — Historique.

Le rôle de la composante mésenchymateuse dans l'organogenèse du foie a généralement été négligé par les auteurs qui se sont jusqu'ici intéressés au développement de cet organe. Ce n'est qu'au tout début de l'organogenèse que l'on signale le fait que les bourgeons épithéliaux pénètrent dans le mésenchyme du *septum transversum* qui entoure le sinus veineux (BROUHA, 1898; CHORONSHITZKY, 1900; KINGSBURY, ALEXANDERSON et KORNSTEIN, 1956; LIPP, 1952; ELIAS, 1955).

Ensuite, des relations étroites s'établissent entre le tissu hépatique et les vaisseaux sanguins (*ductus venosus*, veines omphalo-mésentériques et ombilicales) à partir desquels s'élabore la vascularisation du foie. Les éléments glandulaires d'une part, endothéliaux d'autre part paraissent être les seuls composants de l'organe (MINOR, 1900 b). La présence d'une armature mésenchymateuse dans laquelle se logent les travées épithéliales est difficile à discerner au cours du développement et seul apparaît à côté des cellules parenchymateuses l'endothélium des sinus sanguins. On peut ainsi lire dans l'ouvrage de LILLIE (1952) sur le développement du Poulet : « During its histogenesis the liver is remarkable in possessing no mesenchyme in embryonic stage. »

L'isolement expérimental du mésenchyme hépatique m'a permis d'envisager le problème de l'organogenèse du foie sous un angle nouveau. Le rôle de ce mésenchyme a été examiné principalement de deux points de vue différents :

— Ayant montré qu'en l'absence des cellules glandulaires il se formait dans les cavités coelomiques les ébauches mésodermiques des lobes droit et gauche du foie, je me suis demandé dans quelle mesure ces formations pouvaient jouer un rôle dans la réalisation de la forme et du volume de l'organe.

La répartition du tissu hépatique en lobes droit et gauche n'a pas été expliquée jusqu'ici d'une manière satisfaisante. On admet en effet depuis les travaux de BROUHA (1898) que cette répartition est vraisemblablement fortuite et ne dépend que de la place laissée libre dans la cavité abdominale par les autres organes.

— D'autre part, j'ai recherché si le mésenchyme propre du foie intervenait dans la différenciation des cellules endodermiques fournissant le parenchyme hépatique.

L'interaction au cours du développement embryonnaire des parties mésenchymateuse et épithéliale de divers organes a été démontrée sur de nombreux exemples pendant ces dernières années. Les méthodes utilisées généralement par les auteurs ayant abordé l'étude de ce problème reposent sur la séparation des deux composantes de l'organe embryonnaire avant le stade de la différenciation. Cette séparation peut être réalisée grâce à la méthode mise au point par MOSCONA (1952). Elle consiste à faire agir sur l'ébauche d'organe la trypsine diluée dans du liquide de Tyrode dépourvu de calcium et de magnésium. La trypsine peut être dans certains cas remplacée par le versène (E. D. T. A.). Les deux composants ainsi isolés sont ensuite cultivés *in vitro*, soit séparément soit après réassociation ou association avec des tissus d'une autre provenance. Dans certains cas, lorsque la méthode de culture *in vitro* ne peut être utilisée seule pour obtenir une différenciation suffisamment poussée, les explants sont transplantés en greffe après leur réassociation.

Les relations épithélio-mésenchymateuses intervenant au cours de l'organogenèse ont été étudiées dans le cas de nombreux organes, tels que la peau et ses annexes (SENGEL, 1958; GOMOT, 1958), le membre (ZWILLING, 1955; SAUNDERS, CAIRNS et GASSELING, 1957; HAMPÉ, 1956, 1959; KIFNY, 1960) les glandes salivaires (GROBSTEIN, 1953 a), le métanéphros (GROBSTEIN, 1953 a, 1955; CALAME, 1961),

le poumon (DAMERON, 1961 ; ALESCIO et CASSINI, 1962 *a* et *b*), le proventricule (SIGOT, 1962) ou le thymus (AUERBACH, 1960).

D'une façon générale, les résultats obtenus par les différents auteurs montrent que ni l'épithélium, ni le mésenchyme d'une ébauche mixte ne peuvent acquérir leurs différenciations normales lorsqu'ils sont isolés. Dans la plupart des cas, le mésenchyme exerce sur l'épithélium une action morphogène, parfois les deux constituants exercent l'un sur l'autre des actions réciproques.

La spécificité de l'action exercée par le mésenchyme est variable selon l'organe considéré. Dans certains cas, le mésenchyme homologue est seul capable d'exercer une action morphogène sur l'épithélium, tandis que l'épithélium d'autres ébauches peut se différencier normalement sous l'action de mésenchymes hétérologues. Certains tissus étrangers au système inducteur considéré peuvent remplacer l'un ou l'autre élément, c'est le cas de la moelle épinière qui induit la formation de tubules urinaires dans le mésenchyme de métanéphros (GROBSTEIN, 1953, 1955 *a* et *b*).

Dans le tableau VII, les résultats obtenus par différents auteurs ont été groupés. Les réponses obtenues avec les mésenchymes hétérologues ont été considérées comme positives lorsque l'épithélium acquiert ses différenciations caractéristiques. Ces réponses peuvent varier dans le détail, en particulier en ce qui concerne la rapidité d'apparition des différenciations épithéliales. D'autre part il faut remarquer que les effets les plus favorables sont toujours produits par les mésenchymes homologues.

TABLEAU VII

Différenciation de l'épithélium des ébauches du poumon, du pancréas, du thymus et de la glande salivaire sous l'action de divers mésenchymes.

Mésenchyme Épithélium	Mésonephrétique	Pulmonaire	Intestinal ou stomacal	Bourgeon de membre	Métanéphrétique	Salivaire	« Général »
Poumon (DAMERON, 1961)	0	+	0		+		
Pancréas (GOLOSOW et GROBSTEIN, 1962)		+	+		+	+	+
Thymus (AUERBACH, 1960)		+		0	+	+	0
Glande salivaire (GROBSTEIN, 1953 <i>b</i>)					0	+	
						(mésenchyme homologue)	

Ces actions morphogènes s'exerçant entre les composantes mésodermique et épithéliale d'organes en voie de différenciation ayant été mises en évidence, différents auteurs ont recherché quelle en est la nature. En particulier, on pouvait se demander si le passage d'une substance chimique de l'un des tissus à l'autre pouvait être décelé. Les résultats acquis dans ce domaine l'ont été grâce à la méthode de culture *in vitro*, les deux éléments réactionnels étudiés ayant été cultivés avec interposition entre eux d'une membrane filtrante empêchant tout contact entre les deux types cellulaires. Ces filtres permettent le passage de substances chimiques dont la dimension maximum des molécules peut être évaluée en première approximation d'après la porosité des filtres utilisés. Ainsi GROBSTEIN (1955, 1956 et 1957) montre que l'effet

de la moelle épinière sur le mésenchyme métanéphrétique peut s'exercer à travers une membrane filtrante de 20 à 30 μ d'épaisseur pour des diamètres de pores allant de 0,4 à 0,8 μ . Dans ces conditions, il ne s'établit pas de contacts cytoplasmiques à travers le filtre (GROBSTEIN et DALTON, 1957) mais l'effet est d'autant plus net que les pores ont un plus grand diamètre. Une membrane de cellophane interposée entre les deux tissus empêche l'action morphogène de s'exercer. La substance responsable de l'action du mésenchyme semble donc composée de molécules de grande taille. DAMERON (1962) obtient l'induction de l'épithélium pulmonaire par le mésenchyme homologue en interposant entre les deux tissus cultivés *in vitro* un fragment de la membrane vitelline de l'œuf de Poule.

B. — Importance de l'ébauche mésodermique dans l'établissement du volume et de la forme du foie.

Dans les expériences précédemment décrites, qui consistent à arrêter le recul de laèvre antérieure de l'ombilic intestinal, les obstacles mécaniques ont pour effet d'empêcher une partie de l'ébauche mésodermique du foie de participer à l'édification de l'organe. L'histogenèse hépatique ne peut s'accomplir que dans le territoire situé en avant des obstacles. La quantité de tissu hépatique formée dépend ainsi de la position des obstacles dans l'aire présomptive du foie.

Dans le cas des radiodestructions de larges bandes de territoire embryonnaire décrites dans la première partie de ce mémoire, une région plus ou moins étendue de l'ébauche mésodermique du foie était détruite par les rayons X tandis que l'ébauche endodermique était intacte. La masse de tissu hépatique qui se formait chez ces embryons était d'autant plus réduite que l'ébauche mésodermique était plus largement détruite.

Ces deux types d'expériences permettent donc de constater que la *quantité de tissu hépatique qui se forme dépend de la quantité de mésoderme présomptif laissée à la disposition des cordons endodermiques*. Cependant, cette relation entre le volume du foie et la quantité de mésenchyme que les cordons épithéliaux peuvent envahir ne s'observe que jusqu'à un certain stade du développement. En effet, vers le dixième jour de l'incubation, le tissu hépatique des embryons ayant été irradiés commence à manifester une croissance importante de telle sorte que le volume du foie tend à devenir normal. Ainsi, dans le cas de l'irradiation d'une bande transversale comprise entre le 2^e et le 10^e somite, le lobe gauche du foie est presque totalement détruit par l'irradiation, tandis que le lobe droit est moins affecté. Jusqu'au dixième jour de l'incubation environ, le lobe droit est de taille légèrement réduite chez l'embryon irradié. A la fin de la période d'incubation au contraire, sa taille est bien supérieure à celle du lobe droit d'un embryon témoin de même stade. Une hypertrophie compensatrice s'est produite tendant à pallier la carence de tissu hépatique produite par l'irradiation. Cette stimulation de la croissance du foie est analogue à celle que l'on observe après hépatectomie partielle chez l'animal adulte. Chez l'embryon de Poulet, l'hypertrophie compensatrice ne débute pas

précocement, mais ne se manifeste que pendant la seconde moitié de la vie embryonnaire.

En ce qui concerne la forme de l'organe, il est classique de considérer depuis les travaux de BROUHA (1898 *b*) que la subdivision du foie en lobes droit et gauche provient de facteurs mécaniques. Selon BROUHA (1898 *b*, p. 337), cette division « n'est d'aucune importance embryologique. Elle résulte uniquement de ce fait que le foie se développe là où il trouve de la place ». Cette opinion ne paraît pas correspondre à la réalité. On peut en effet remarquer tout d'abord que chez les embryons cœlosomiens dont les viscères se développent à l'extérieur de la cavité générale, le tissu hépatique est réparti en deux lobes comme chez les embryons normaux. D'autre part, lorsque des obstacles transversaux isolent dès un stade précoce la partie postérieure de l'aire hépatique, le mésenchyme se développe en deux masses qui constituent la trame mésodermique des deux lobes du foie. Ces deux formations mésenchymateuses présentent avec les organes abdominaux et en particulier avec les vaisseaux sanguins, les mêmes rapports anatomiques que les lobes du foie des embryons normaux aux jeunes stades du développement. Par conséquent, la répartition du parenchyme hépatique en deux lobes n'est pas fortuite mais répond à un plan d'organisation. Seuls les détails morphologiques de l'organe définitif résultent du modelage du foie par les organes voisins et la paroi du corps.

C. — Rôle du mésenchyme hépatique
dans la différenciation et la multiplication des cellules
des bourgeons épithéliaux du foie.

1^o *Conditions particulières de cette étude
dans le cas du foie.*

Le blastème du mésenchyme hépatique se développe progressivement d'avant en arrière au cours des 3^e et 4^e jours de l'incubation. Au moment où apparaissent les bourgeons endodermiques qui fourniront les cordons cellulaires du foie, le mésenchyme hépatique n'est pas encore individualisé en arrière du repli cardiaque. Il est colonisé par les cellules hépatiques au cours même de sa formation alors que s'accomplit la fermeture de l'intestin pré-ombilical. De ce fait, le foie présente ce caractère particulier de n'être à aucun moment de son organogenèse composé de l'association d'une ébauche mésenchymateuse individualisée et d'une ébauche épithéliale encore indifférenciée. Au contraire, dans le cas des différents organes (poumon, métanéphros, pancréas par exemple) étudiés par les auteurs cités précédemment, on est en présence à un stade relativement avancé du développement — 5 à 6 jours chez le Poulet, 11 à 12 jours chez la Souris — d'une ébauche bien constituée et nettement délimitée dans laquelle ni la composante mésodermique ni la composante épithéliale

ne sont encore différenciées. Dans ce cas, il est aisé de séparer ces deux constituants à un stade précédant la différenciation pour étudier leurs rôles dans l'organogenèse. Dans le cas du foie, l'étude des interactions épithélio-mésenchymales n'a pu être entreprise que grâce à l'isolement expérimental du mésenchyme propre du foie obtenu par la méthode décrite dans le chapitre précédent.

2^o Méthodes utilisées.

a) Isolement de l'ébauche épithéliale du foie.

L'ébauche épithéliale du foie se présente, tout au début du développement de cet organe, c'est-à-dire au stade de 20 à 22 somites (environ 50 heures d'incubation), sous forme d'un renflement de l'endoderme dans le mésenchyme du *septum transversum* au niveau de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal. A un stade plus avancé, ce renflement unique se divise en deux bourgeons dont l'un est crânial et l'autre caudal par rapport au sinus veineux.

L'isolement de l'épithélium hépatique à ces stades de développement est effectué de la manière suivante : le repli cardiaque est prélevé comme le

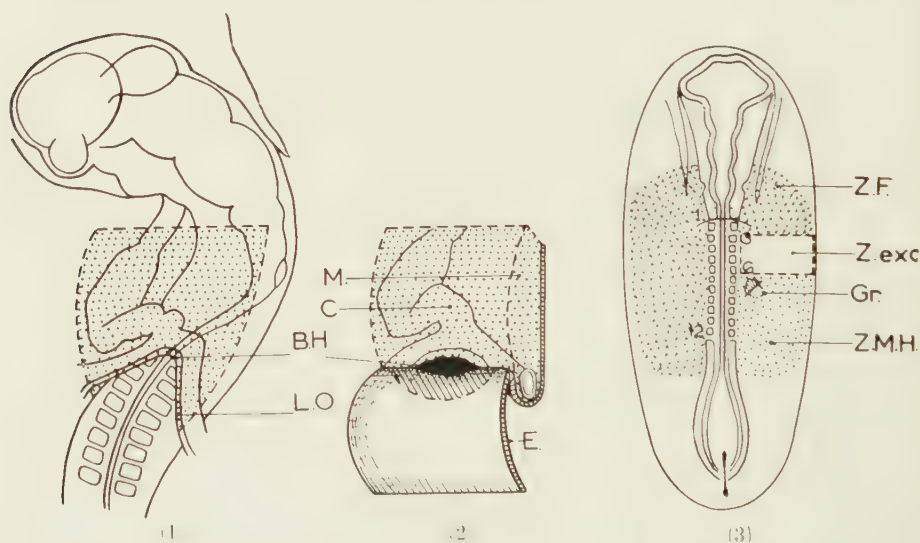


Fig. 24. — Schéma expérimental de l'association *in ovo* des bourgeons endodermiques du foie et du mésenchyme hépatique. (1) Prélèvement du repli cardiaque chez un embryon de 21 somites. (2) Décollement de l'endoderme (E.) sous l'action de la trypsine. (3) Greffe de ces bourgeons dans la zone présomptive du mésenchyme hépatique (Z. M. H.) isolé par l'excision d'un fragment de l'aire latérale.

C. : Cœur ; Gr. : Greffon ; L. O. : Lèvre antérieure de l'ombilic intestinal ; M. : Mésenchyme ; Z. F. : Zone où le foie se différencie ; Z. exc. : Zone excisée.

montre la figure 24 (1) et traité par une solution à 1 ‰ de trypsine dans le liquide de MOSCONA (1952) (liquide de Tyrode sans calcium ni magnésium). Le traitement dure 20 à 30 minutes à la température de 2° C. L'endoderme du repli cardiaque tend alors à se détacher du mésoderme sous-jacent et la séparation complète des deux tissus est aisément obtenue à l'aide de deux aiguilles très fines (fig. 24 (2)). L'endoderme est ensuite découpé et la région des bourgeons hépatiques est seule prélevée. Le fragment endodermique ainsi obtenu est débarrassé de l'excès de trypsine par un séjour de 15 à 30 minutes dans un mélange composé de 3 parties de liquide de Tyrode pour 1 partie de sérum de Poulain.

L'évolution de cet épithélium hépatique isolé ou placé en association avec différents mésenchymes a été étudiée *in ovo* et *in vitro*.

b) Greffe de l'épithélium hépatique *in ovo*.

Les bourgeons épithéliaux du foie, privés du mésenchyme sous-jacent, ont été greffés soit dans le coelome d'embryons de 3 jours d'incubation, ceci pour étudier leur évolution en dehors de tout mésenchyme, soit à différents endroits dans des embryons de 9 à 25 somites pour éprouver l'influence du mésenchyme de l'hôte sur le développement du greffon.

c) Culture *in vitro* de bourgeons épithéliaux associés à divers mésenchymes.

Les associations en culture organotypique des deux types de tissus sont réalisées en plaçant les bourgeons épithéliaux sur un mésenchyme déterminé. Ce dernier est obtenu soit par dissociation par l'action de la trypsine de certains organes comme le poumon par exemple, soit par la méthode des obstacles dans le cas du mésenchyme propre du foie.

3° Évolution de l'épithélium hépatique privé de mésenchyme.

En culture organotypique, selon la méthode de Wolff et Haffen, l'épithélium hépatique s'étale sur le milieu puis, très rapidement, se désagrège et dégénère.

En greffe coelomique, la survie de l'épithélium hépatique est meilleure que *in vitro*. Cet épithélium a été greffé dans le coelome d'embryons de 3 jours d'incubation ; on a pris soin d'introduire le greffon dans la cavité coelomique, de telle sorte qu'il n'adhère pas au mésenchyme de la paroi du corps et ne se développe pas dans ce tissu.

Dans 5 cas sur 10, le greffon a été irrigué et a survécu. Son développement est d'ailleurs extrêmement limité et après 10 jours de greffe, la

taille qu'il atteint est minime : il ne peut être retrouvé à la dissection que grâce aux grains de charbon animal qui ont été déposés à sa surface lors de l'implantation. Aucune différenciation de type hépatique n'est constatée dans le greffon à l'examen histologique. Au contraire, la structure épithéliale est perdue et les bourgeons hépatiques se sont transformés en une petite masse d'aspect mésenchymateux.

Le développement de l'épithélium hépatique dans la cavité cœlomique d'un embryon hôte est donc précaire, très limité et ne comporte pas de différenciation en cellules hépatiques.

4^o Influence du mésenchyme propre du foie sur l'évolution des bourgeons épithéliaux.

Cette influence a été étudiée *in ovo* et *in vitro*.

a) In ovo.

Des bourgeons épithéliaux privés de mésenchyme ont été greffés dans la région latérale d'embryons de 9 à 13 somites, au niveau de l'aire pré-somptive du mésenchyme hépatique. Un obstacle transversal placé en avant de la greffe empêche l'envahissement du mésenchyme hépatique par les travées épithéliales de l'hôte. Dans certains cas, j'ai utilisé une autre méthode consistant à exciser une bande transversale sur l'épaisseur de 3 à 4 somites, depuis l'axe somitique jusqu'à l'aire opaque (fig. 24 (3)). Cette dernière technique permet la survie d'un pourcentage relativement élevé d'embryons et est tout à fait efficace pour empêcher la colonisation, par les cordons épithéliaux de l'embryon, du mésenchyme hépatique situé en arrière de l'excision. En effet, la cicatrisation des lèvres de la plaie provoque la soudure des trois feuillets embryonnaires. Ceci empêche le glissement des feuillets les uns par rapport aux autres. La figure 25 montre la soudure au niveau du gésier des feuillets splanchnique et somatique. Ainsi, comme dans le cas des obstacles mécaniques, les mouvements morphogénétiques et en particulier le recul de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal sont arrêtés. Il en résulte que l'embryon reste ouvert ventralement depuis le niveau de l'excision jusqu'à l'ombilic intestinal et que les cordons hépatiques issus des bourgeons sont arrêtés au niveau antérieur de la plaie (fig. 26). La figure 24 (3) indique le schéma expérimental de l'implantation du greffon dans l'aire hépatique pré-somptive, en arrière de l'excision.

Cette série expérimentale comprend 50 embryons opérés puis recevant le greffon constitué des bourgeons hépatiques isolés. Dans 27 cas, les embryons hôtes ont survécu au moins jusqu'au 5^e jour de l'incubation. Dans 1 cas seulement le greffon n'a pas été retrouvé. Dans les 26 cas

restant, l'évolution des greffons a été identique. L'endoderme greffé s'est soudé à celui de l'hôte au niveau de l'implantation. Il a alors poursuivi son évolution normale en constituant une invagination épithéliale pénétrant dans le mésenchyme hépatique sous-jacent (fig. 27).

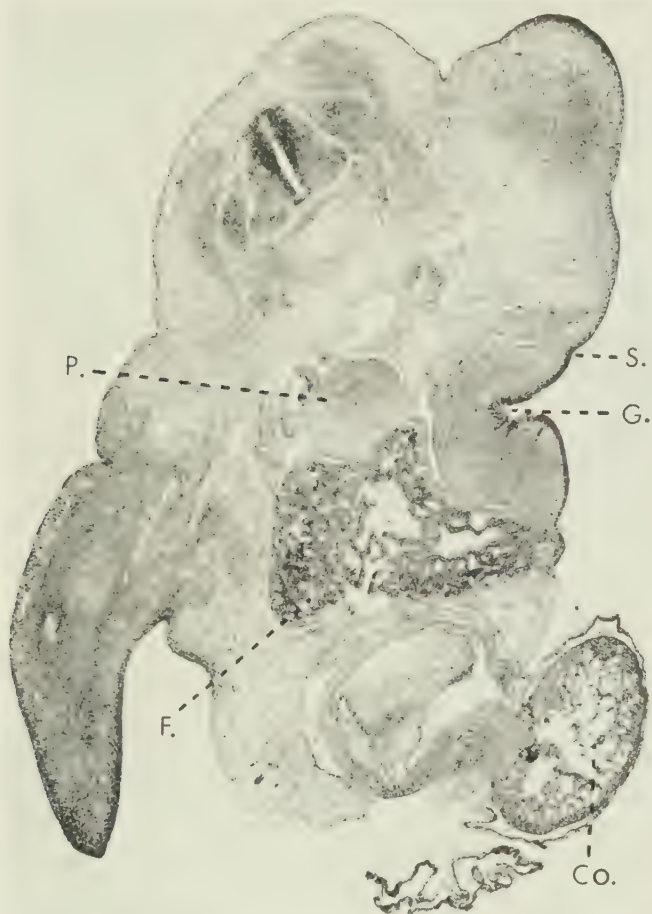


Fig. 25. — Coupe transversale d'un embryon de 6 jours d'incubation réalisée au niveau où a été pratiquée l'excision d'un fragment de l'aire latérale (fig. 24 (3)). Le gésier (G.), resté ouvert ventralement, est incomplet du côté droit et sa paroi est soudée à la somatopleure. Le foie (F.) et le poumon (P.) ne se sont formés que du côté non opéré. Le cœur (Co.) est placé à gauche.

S. : Soudure de la splanchnopleure et de la somatopleure (Hémalun de Mayer, $\times 30$)

Au 7^e jour de l'incubation, les travées hépatiques formées par le greffon ont abondamment proliféré et ont colonisé toute la partie du mésenchyme hépatique située en arrière de l'excision (fig. 28). Il se constitue ainsi dans

a cavité coelomique un lobe de foie aussi volumineux que celui qui s'est formé normalement du côté non opéré (fig. 29). Du côté opéré le tissu hépatique est d'origine mixte, il est constitué du mésenchyme de l'embryon hôte et de l'endoderme greffé. Il convient de remarquer que le mésenchyme hépatique de l'hôte s'accroît considérablement lorsqu'il est colonisé par

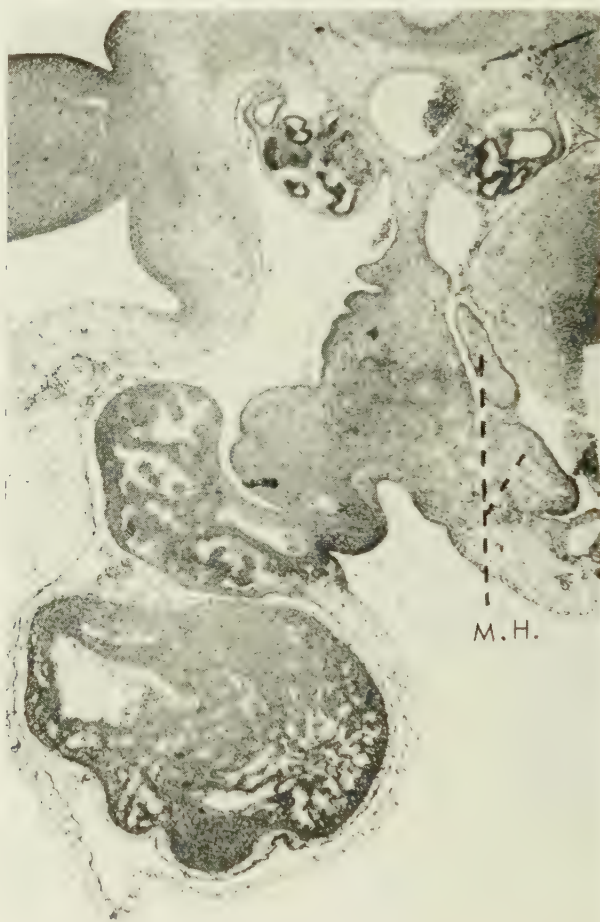


Fig. 26. — Coupe transversale du même embryon au-dessous du niveau de l'excision. Le mésenchyme hépatique (M. H.) est visible dans la cavité coelomique droite (Hémalun de Mayer, $\times 50$).

le greffon, tandis que lorsque l'excision n'est pas suivie de greffe, il ne constitue qu'une formation de taille réduite.

La figure 30 schématise le principe de l'expérience réalisée et les résultats obtenus.

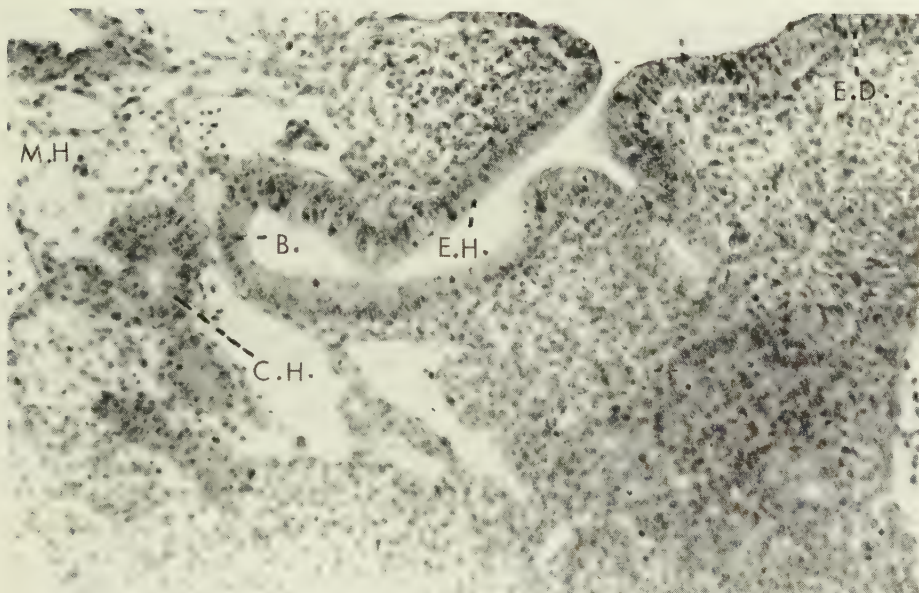


Fig. 27. — Association *in ovo* de l'épithélium hépatique (E. H.) avec le mésenchyme homologue d'un embryon hôte (M. H.). L'endoderme greffé s'est soudé à l'endoderme digestif (E. D.) de l'hôte et a fourni un bourgeon de foie (B.), qui commence à former des cordons de cellules hépatiques (C. H.) (Hématoxyline-Éosine, $\times 190$).

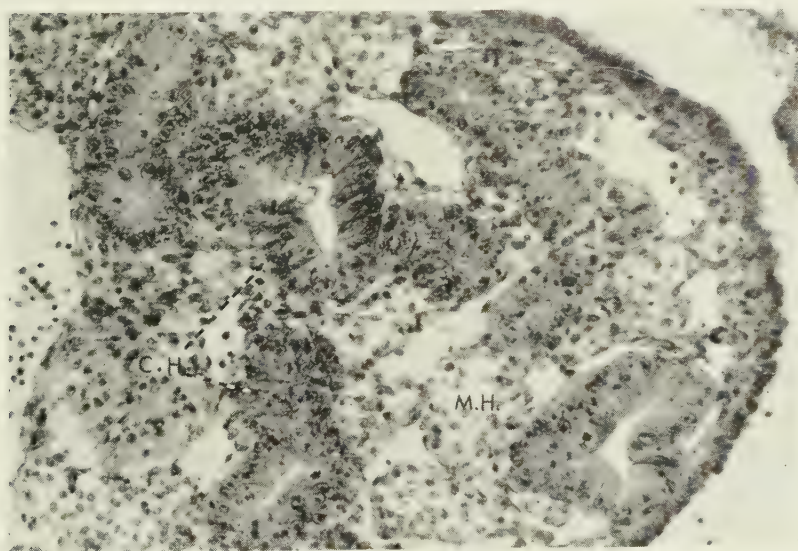


Fig. 28. — Même expérience. A 5 jours $1/2$ d'incubation, le mésenchyme hépatique (M. H.) de l'hôte est partiellement colonisé par les cordons de cellules hépatiques (C. H.) provenant de l'endoderme greffé (Hématoxyline-Éosine, $\times 240$).

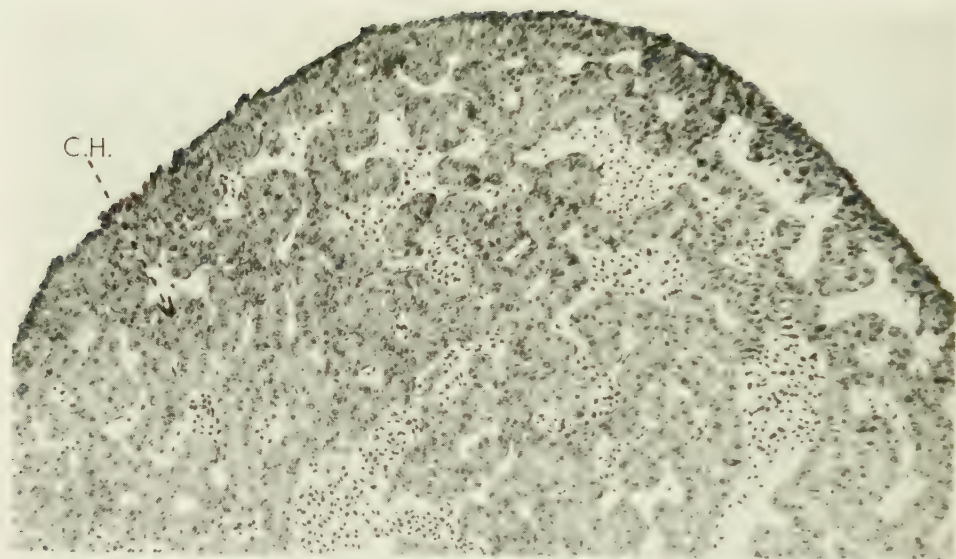


Fig. 29.

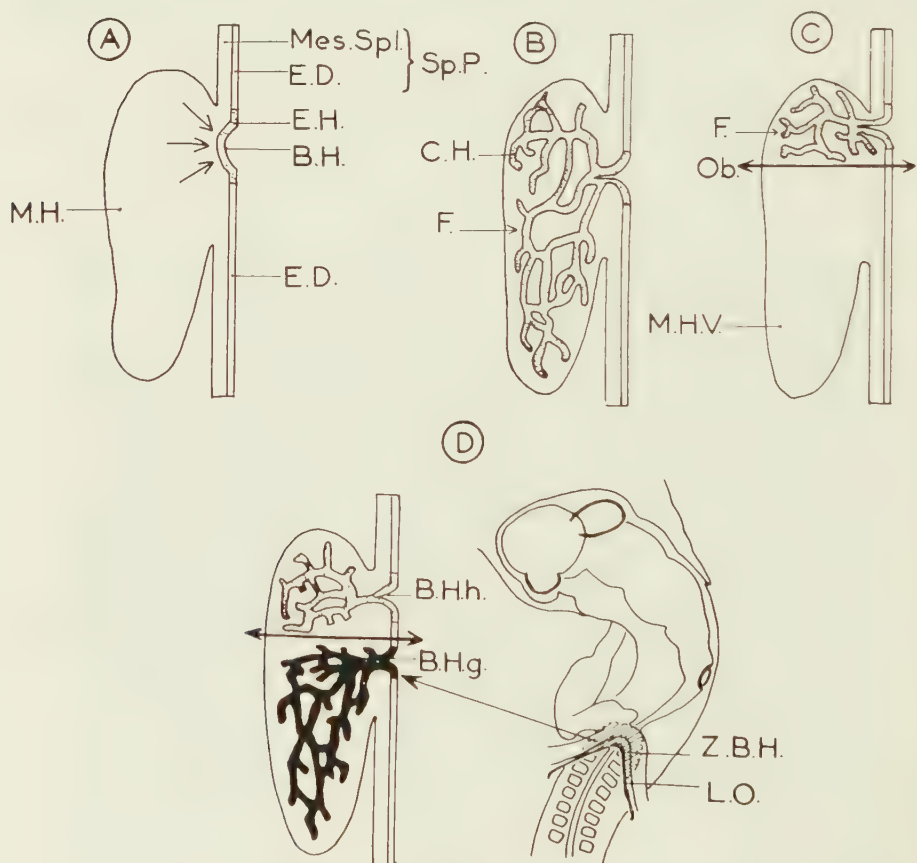


Fig. 30.

b) *In vitro*.

Le mésenchyme hépatique isolé à l'aide d'un obstacle transversal ou d'une excision est prélevé aux 5^e, 6^e et 7^e jours de l'incubation et explanté en culture organotypique. Sur ce mésenchyme est placée l'ébauche endodermique du foie prélevée et isolée chez des embryons de 21 à 23 somites. Après 3 à 6 jours de culture, on constate que les deux tissus se sont étroitement associés : l'épithélium a proliféré et a fourni des cellules hépatiques différenciées qui ont envahi le mésenchyme (fig. 31).

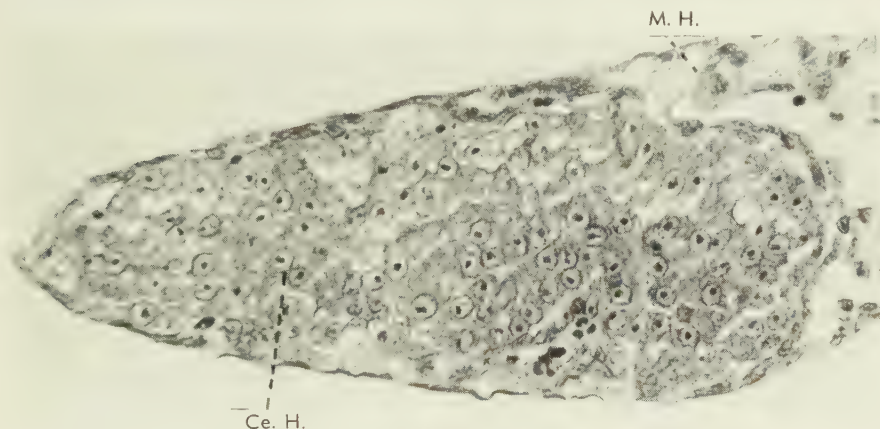


Fig. 31. — Lobule de foie formé en 4 jours de culture par une association de mésenchyme hépatique (M. H.) et de bourgeons épithéliaux du foie prélevés chez un embryon de 21 somites.

Ce. H. : Cellules hépatiques ; M. H. : Mésenchyme hépatique (Hématoxyline-Éosine, $\times 440$).

Fig. 29. — Même expérience. Au 7^e jour de l'incubation, les travées hépatiques issues du greffon ont proliféré et ont envahi tout le mésenchyme. Un lobe de foie s'est constitué dans la cavité coelomique de l'hôte.

C. H. : Cordons hépatiques (Hématoxyline-Éosine, $\times 100$).

Fig. 30. — Principe de la méthode expérimentale permettant d'isoler le mésenchyme hépatique et de l'associer à l'endoderme des bourgeons épithéliaux du foie. A. et B. — Rôle du mésenchyme hépatique. La splachnopleure (Sp. P.) comprend le mésenchyme splachnique (Més. spl.) et l'endoderme digestif (E. D.) dont l'endoderme hépatique (E. H.). Sous l'influence du mésoderme (flèches), l'endoderme forme des bourgeons hépatiques (B. H.). Il se constitue ainsi un lobe de foie (F.). M. H. : Mésenchyme hépatique ; C. — Isolement expérimental du mésenchyme hépatique. En arrière d'un obstacle (Ob.), le mésenchyme hépatique seul se développe, vide de cordons épithéliaux (M. H. V.) ; D. — Obtention d'un lobe de foie mixte, formé à partir du mésenchyme d'un embryon hôte et de l'endoderme hépatique d'un embryon donneur. L'épithélium greffé forme, sous l'influence du mésenchyme hépatique, des cordons épithéliaux qui l'envahissent.

Z. B. H. : Zone des bourgeons hépatiques du donneur ; L. O. : Lèvre antérieure de l'ombilic intestinal ; B. H. h. : Bourgeons hépatiques de l'hôte ; B. H. g. : Bourgeons hépatiques greffés ; C. H. : Cordons hépatiques.

Toutefois, contrairement à ce qui se produit *in ovo*, ce mésenchyme ne prolifère pas. Le petit lobule de foie obtenu a une structure compacte tout à fait semblable à celle qu'on observe après quelques jours de culture quand on explante du foie déjà différencié. En l'absence de circulation sanguine, en effet, la cavité des sinusoides disparaît ou ne se constitue pas. D'autre part, on trouve de façon constante dans la masse de tissu hépatique obtenue *in vitro* une petite formation épithéliale, tubulaire ou vésiculaire, qui correspond vraisemblablement à la partie cystique de l'ébauche endodermique. C'est cette dernière qui, en greffe, s'unit à l'endoderme digestif de l'hôte pour former le bourgeon hépatique qui s'enfonce dans le mésenchyme.

DIFFÉRENCIATION FONCTIONNELLE

La réaction à l'acide periodique-Schiff sur des explants de 3, 4 et 6 jours de culture a montré que les cellules hépatiques qui se sont différenciées dans ces conditions expérimentales sont capables d'accumuler du glycogène (fig. 32).

Ainsi, j'ai obtenu pour la première fois la différenciation de cellules hépatiques en culture d'organe, à partir de l'endoderme présomptif du foie indifférencié.

On peut conclure de ces expériences que dans l'organogenèse normale, le mésenchyme hépatique exerce sur les jeunes bourgeons du foie une influence morphogène qui détermine la prolifération de l'épithélium sous

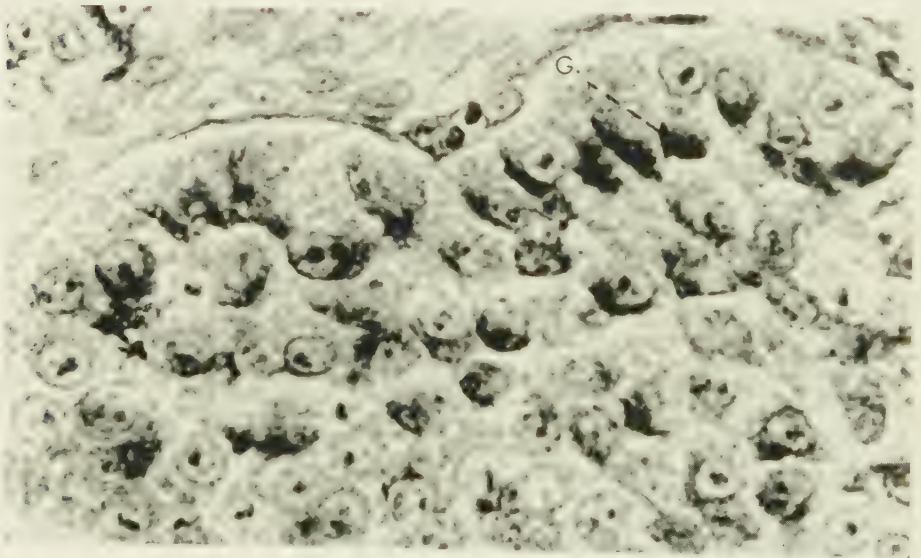


Fig. 32. — Coloration à l'A. P. S. d'un fragment de foie obtenu en culture à partir de l'association de l'endoderme hépatique et du mésenchyme homologue. Les cellules hépatiques présentent des inclusions de glycogène (G.) ($\times 1.100$).

la forme de cordons hépatiques. Cette action est donc double : le mésenchyme hépatique, d'une part stimule la prolifération cellulaire et d'autre part provoque la différenciation des cellules épithéliales en cellules hépatiques.

La spécificité de cette action a été éprouvée en associant l'épithélium à différents mésenchymes hétérologues.

D. — Étude de l'influence d'autres mésenchymes sur l'évolution des bourgeons épithéliaux du foie.

L'épithélium des bourgeons hépatiques, prélevé et isolé au stade de 20-22 somites selon la technique précédemment décrite, a été associé à différents mésenchymes hétérologues, soit *in vitro*, soit *in ovo*. Dans le premier cas, les bourgeons épithéliaux ont été explantés en culture organotypique en association avec le mésenchyme de certains organes ou ébauches (somites, mésonéphros, poumon, etc.). Dans le deuxième cas, les bourgeons sont greffés à différents niveaux chez des embryons, de telle sorte qu'ils se trouvent placés et évoluent dans des mésenchymes déterminés (bourgeon de membre, mésenchyme céphalique, somite, mésonéphros, mésenchymes péritonéaux, mésentériques et de la paroi du tube digestif).

1° *Mésenchyme du bourgeon de membre.*

Les bourgeons épithéliaux du foie ont été greffés dans le bourgeon d'aile d'embryons de 3 jours d'incubation. Les marques de charbon déposées sur le greffon permettent de le retrouver aisément à l'examen histologique qui est pratiqué au 7^e jour de l'incubation de l'hôte.

Dans tous les cas, le greffon fournit une petite vésicule à paroi épithéliale (fig. 33). L'évolution des bourgeons en travées hépatiques ne s'accomplit pas et la prolifération des cellules est très réduite. Le mésenchyme du bourgeon de membre se révèle donc défavorable aussi bien à la prolifération qu'à la différenciation des cellules épithéliales de l'ébauche hépatique.

2° *Mésenchyme céphalique.*

L'action de ce mésenchyme a également été étudiée *in ovo*. Les bourgeons hépatiques sont greffés chez des embryons de 10 à 13 somites dans le mésenchyme de la tête au niveau du cerveau moyen. Comme dans le cas précédent, l'examen histologique est pratiqué au 7^e jour de l'incubation. Le développement des bourgeons épithéliaux du foie dans ces conditions est à peu près semblable à celui qui résulte de leur implantation dans le mésenchyme du bourgeon de membre. Il ne se forme en effet qu'une vésicule

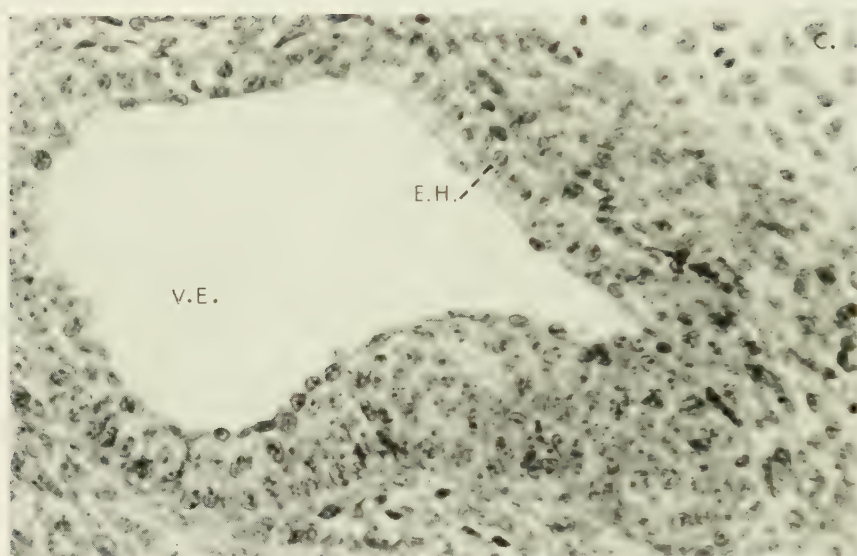


Fig. 33. — Évolution des bourgeons épithéliaux du foie greffés dans le mésenchyme du membre. Après 4 jours 1/2, l'endoderme n'a fourni qu'une petite vésicule à paroi épithéliale (V. E.) et ne présente aucune différenciation hépatique.

C. : Cartilage ; E. H. : Endoderme hépatique (Hématoxyline-Éosine, $\times 450$).

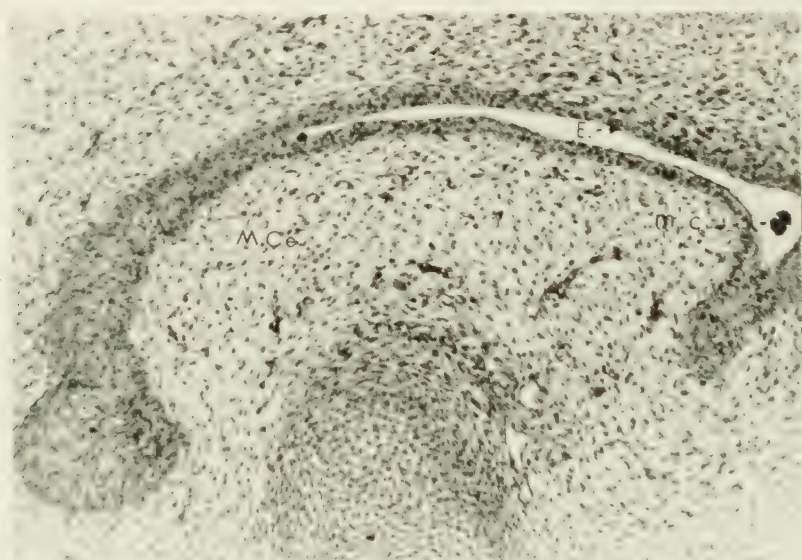


Fig. 34. — Association *in ovo* des bourgeons épithéliaux du foie avec du mésenchyme céphalique (M. Cé.). Après 4 jours 1/2 de greffe, l'endoderme (E.) n'a fourni qu'une vésicule épithéliale à paroi mince.

m. c. : Marques de charbon accompagnant le greffon (Hémalun de Mayer, $\times 130$).

épithéliale dont la paroi est plus mince que dans le cas précédent. Ici encore l'évolution en cellules hépatiques est totalement inhibée et la multiplication cellulaire est peu active (fig. 34).

3° *Mésenchyme somitique.*

a) *Association in ovo par la méthode des greffes.*

Les embryons porte-greffe ont de 15 à 20 somites. L'épithélium hépatique forme une vésicule, sans donner naissance à des cordons glandulaires comme dans le cas où il est greffé dans le mésenchyme du membre ou de la tête (fig. 35).



Fig. 35. — Dans le mésenchyme dorsal du tronc, les bourgeons endodermiques du foie ne fournissent, comme c'est le cas dans les deux associations précédentes, qu'une formation épithéliale sans différenciation hépatique.

Ch. : Chorde dorsale ; Ao. : Aorte ; Méso. : Mésonéphros ; V. E. : Vésicule épithéliale formée à partir de l'endoderme hépatique (E. H.) greffé (Hémalun de Mayer, $\times 100$).

b) *Association en culture organotypique in vitro.*

Ce mésenchyme est prélevé chez des embryons de 3 jours d'incubation. En culture organotypique les deux explants s'associent et fusionnent, mais l'épithélium ne prolifère que faiblement. De plus, il ne se produit

pas de différenciation cellulaire hépatique. La figure 36 montre le résultat obtenu après 6 jours de culture. L'épithélium forme une lame plus ou moins plissée et pratiquement jamais de formation vésiculaire.

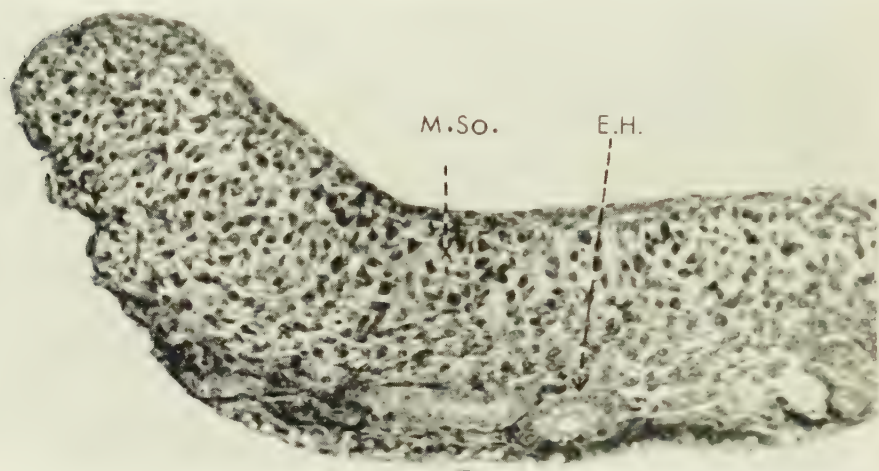


Fig. 36. — Association en culture *in vitro* du mésenchyme somitique (M. so.) prélevé à 3 jours d'incubation avec les bourgeons endodermiques du foie. Après 6 jours de culture, les deux tissus se sont soudés, mais l'endoderme (E. H.) prolifère peu et ne fournit pas de différenciation hépatique (Hématoxyline-Eosine, $\times 260$).

4° Mésenchyme du mésonéphros.

a) Association in ovo par la méthode des greffes.

Les bourgeons épithéliaux du foie ont été greffés chez des embryons de 17 à 20 somites dans le territoire présomptif du mésonéphros. Ce territoire s'étend le long du futur bord somitique en arrière du 15^e somite. Dans ces conditions, le greffon atteint le blastème mésonéphrétique avant que l'organogenèse de ce dernier ait débuté. Le résultat de l'expérience est examiné au 7^e jour de l'incubation. A la dissection, on observe, à la place du mésonéphros, une ou deux très grandes vésicules qui occupent une place importante dans la cavité abdominale (fig. 37). L'examen histologique de cette région montre que ces vastes poches qui se sont formées dans le mésenchyme mésonéphrétique ont considérablement limité l'extension des tubules du mésonéphros. Dans certains cas, ils en ont même totalement empêché la formation. Leur paroi est constituée d'un épithélium à cellules cylindriques.

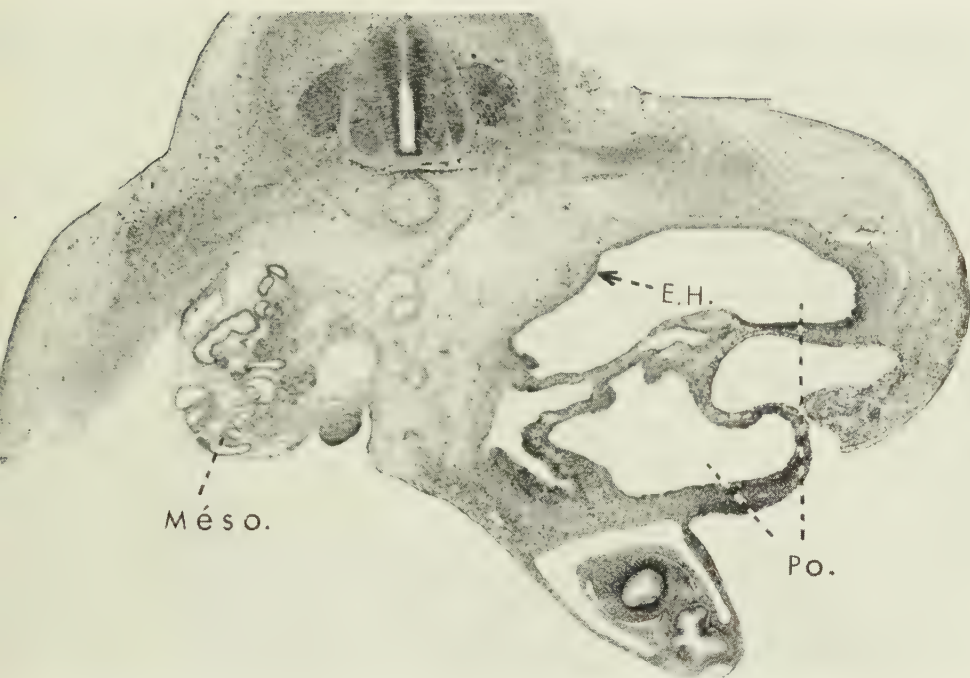


Fig. 37. — Association *in vivo* de l'endoderme hépatique et du mésenchyme mésonéphrétique. Coupe transversale réalisée chez un embryon de 7 jours d'incubation au niveau du mésonéphros (Méso.). Après 4 jours 1/2 de greffe, il se forme de vastes poches à paroi épithéliale (Po.) à partir de l'endoderme hépatique (E. H.) greffé dans le territoire présomptif du mésonéphros. Les tubules mésonéphrétiques sont absents du côté où a été implanté le greffon (Hémalun de Mayer, $\times 30$).

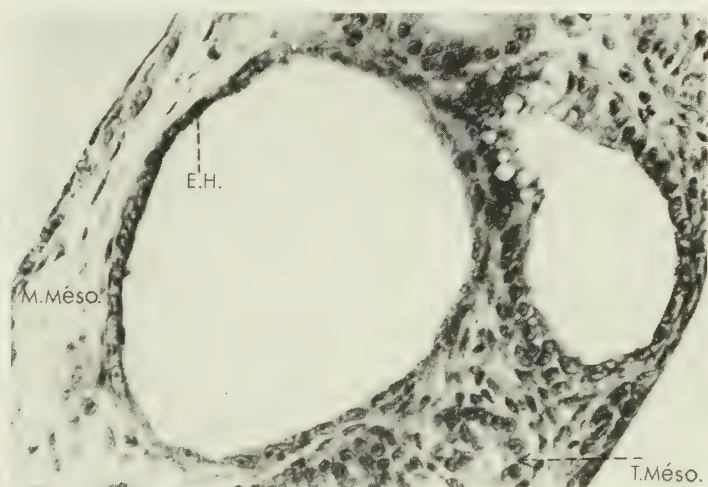


Fig. 38. — Association, en culture *in vitro*, de mésonéphros prélevé sur un embryon de 7 jours avec des bourgeons épithéliaux hépatiques. L'endoderme hépatique (E. H.) fournit une vésicule à paroi mince.

T. méso. : Tubule mésonéphrétique ; M. méso. : Mésenchyme mésonéphrétique (Hémalun de Mayer, $\times 360$).

b) *Association en culture organotypique in vitro.*

Les bourgeons épithéliaux du foie ont été associés en culture avec du mésonéphros provenant d'embryons de 5 et 7 jours d'incubation. Les résultats ont été étudiés après 4 à 6 jours de culture. D'une façon générale, l'épithélium hépatique s'associe bien en culture au mésonéphros. L'examen histologique permet d'observer des aspects tout à fait analogues à ceux qui ont été obtenus *in ovo* par la méthode des greffes : dans le mésenchyme mésonéphrétique l'épithélium hépatique forme une vésicule très dilatée (fig. 38). Les tubules mésonéphrétiques existant déjà au moment de l'association *in vitro*, le développement des vésicules dérivées de l'épithélium hépatique est limité par leur présence, ce qui n'est pas le cas dans l'expérience de greffe.

5° *Mésenchymes péritonéaux et mésentériques.*

Le péritoine, membrane séreuse limitant la cavité coelomique et recouvrant la plupart des organes de la cavité abdomino-pelvienne, est composé de deux feuillets, viscéral et pariétal. Chacun de ces feuillets comprend un épithélium coelomique doublé d'une couche de tissu conjonctif (*fascia propria* du feuillet pariétal des Mammifères).

La cavité coelomique est divisée en deux parties par une cloison sagittale, le mésentère. Celui-ci est limité latéralement par le feuillet viscéral du péritoine. Chez l'embryon, le mésentère est formé initialement de trois parties : le mésentère dorsal, qui rattache le tube digestif à la paroi dorsale du corps, le mésentère moyen qui enveloppe le tube lui-même et enfin, le mésentère ventral qui l'unit à la paroi ventrale du corps.

Dans la région du sinus veineux, le mésentère dorsal constitue, avec les mésocardes latéraux de KÖLLIKER (1879) entourant les canaux de Cuvier, le *septum transversum* dont les expansions postéro-latérales (qui se développent le long des veines omphalo-mésentérique à droite et ombilicale à gauche) sont les ébauches des lobes droit et gauche du foie.

Étant donné la parenté embryologique des mésenchymes péritonéaux, mésentériques et hépatique, il m'a paru intéressant d'étudier l'influence que pouvaient exercer les deux premiers sur le développement de bourgeons hépatiques qui leur seraient expérimentalement associés. Cette étude a été réalisée, comme dans le cas des expériences précédentes par des associations en culture organotypique et par des greffes *in ovo*.

En premier lieu, j'ai éprouvé l'influence exercée dans ces conditions expérimentales par le mésenchyme pulmonaire. Les deux ailes mésenchymateuses pulmonaires qui reçoivent les bourgeons bronchiques constituent en effet des expansions mésentériques.

a) *Le mésenchyme pulmonaire.*

Ce mésenchyme a été obtenu à partir de poumons prélevés sur des embryons de 5 jours d'incubation et dissociés par action de la trypsine en leurs composantes mésodermique et endodermique selon la méthode utilisée par F. DAMERON (1961). Le mésenchyme pulmonaire est ensuite associé sur un milieu de culture avec l'endoderme hépatique.

Au cours de la culture, qui dure 4 à 6 jours, l'épithélium prolifère et se différencie en cellules hépatiques. Il se constitue ainsi des petits nodules de foie qui colonisent partiellement le tissu mésenchymateux d'origine pulmonaire. Ce dernier se montre donc tout à fait favorable à la différen-

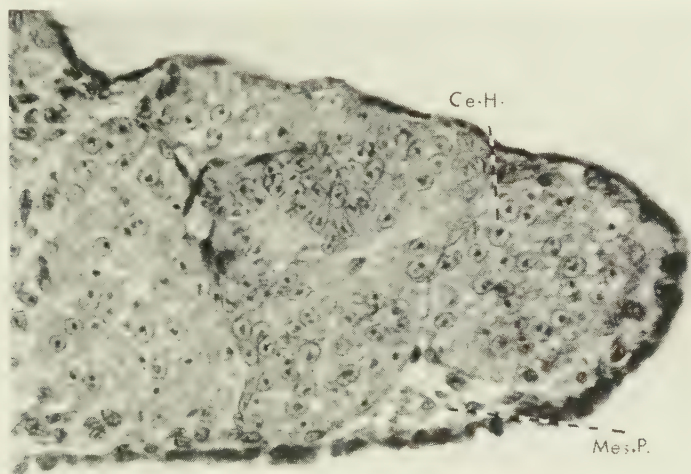


Fig. 39. — Association en culture *in vitro* de bourgeons épithéliaux hépatiques et de mésenchyme pulmonaire (Més. P.) prélevé au 5^e jour de l'incubation. Après 4 jours de culture, il s'est formé dans le mésenchyme des nodules de cellules hépatiques (Ce. H.) (Hématoxyline-Eosine, $\times 460$).

ciation des cellules hépatiques. Toutefois, l'action exercée sur la prolifération de l'épithélium est plus faible que dans le cas du mésenchyme propre du foie. En effet, dans les mêmes conditions expérimentales, celui-ci est envahi en entier par les cellules hépatiques, tandis qu'il ne s'en forme que des nodules dans le mésenchyme pulmonaire (fig. 39).

b) *Mésentère et paroi du tube digestif.*

Le développement de l'épithélium hépatique dans ces mésenchymes a été étudié par la méthode des greffes. Une fente intéressant les trois feuillets est pratiquée dans les aires latérales d'embryons de 15 à 23 somites et des bourgeons hépatiques y sont insérés.

Les greffons ont été placés à différents niveaux selon les séries expérimentales d'après la localisation des ébauches de l'appareil digestif établie dans la première partie de ce travail. Ainsi, les greffons ont toujours été placés en arrière du niveau du 15^e somite puisqu'il a été établi que les territoires hépatiques présomptifs s'étendent jusqu'à ce niveau de part et d'autre de l'axe somitique. Des bourgeons greffés latéralement en avant du 15^e somite se seraient développés dans la masse même du foie de l'hôte. Pour cette raison, les niveaux choisis pour l'implantation du greffon ont été ceux des territoires présomptifs de l'anse grêle et de l'intestin postérieur. Dans ces conditions, on constate, au 7^e jour de l'incubation, que le greffon

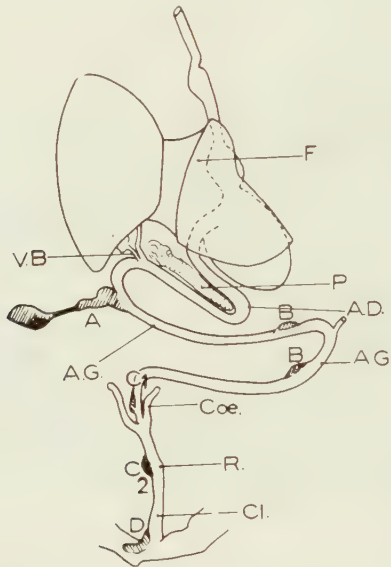


Fig. 40. — Étude du développement *in vivo* de l'ébauche épithéliale du foie dans le mésenchyme du tube digestif. Schéma du tube digestif d'un embryon de 7 jours d'incubation montrant le lieu d'implantation des greffons. L'endoderme hépatique prélevé au stade de 20 à 22 somites est introduit à différents niveaux chez l'embryon de 2 jours et est placé :

- dans la partie antérieure de l'anse grêle (A. G.) : niveau A ;
- dans la partie moyenne de l'anse grêle : niveau B ;
- dans la partie terminale de l'anse grêle : niveau C₁ ;
- dans le rectum : niveau C₂ ;
- dans la région cloacale : niveau D.

V. B. : Voies biliaires ; P. : Pancréas (autres légendes comme précédemment).

se développe dans la majorité des cas dans la splanchnopleure et qu'il envahit plus ou moins le mésentère dorsal.

Les résultats obtenus varient avec l'endroit d'implantation du greffon. Selon la partie du tube digestif considérée, plusieurs niveaux peuvent être distingués (fig. 40).

— *Niveau A.* — Le greffon, implanté au niveau des 16^e à 18^e somites, atteint la partie tout à fait antérieure de l'anse grêle.

— *Niveau B.* — Correspondant à la plus grande partie de l'anse grêle, ce niveau est atteint lorsque le greffon est implanté entre les 18^e et 23^e somites.

— *Niveaux C1 et C2.* — Ils correspondent à la partie postérieure de l'anse grêle, au gros intestin et au rectum. Ils sont atteints lorsque le greffon est placé au niveau des 23^e à 25^e somites (à leurs niveaux présomptifs lorsque ces somites ne sont pas encore formés quand on effectue la greffe).

— *Niveau D.* — L'implantation du greffon dans la partie postérieure de la région inségmentée chez des embryons de 21 à 23 somites, a pour résultat le développement des bourgeons hépatiques dans la paroi cloacale.

Le tableau VIII indique les résultats obtenus dans les différentes séries expérimentales.

1) *Implantation du greffon au niveau A.* — Il se forme à partir des bourgeons hépatiques greffés un petit lobule de foie indépendant de la paroi intestinale mais relié à elle par un petit conduit à paroi épithéliale.

TABLEAU VIII

*Évolution de bourgeons hépatiques
greffés à différents niveaux présomptifs du tube digestif.*

Niveau atteint par le greffon	Nombre de cas	Évolution du greffon	
		Travées hépatiques	Formations épithéliales non hépatiques
A	5	5	0
B	7	5	2
C	13	4	12
D	5	5	0

La figure 41 montre l'aspect histologique de ce lobule hépatique. Dans certains cas, le tissu hépatique formé par le greffon peut être totalement indépendant de la paroi ventrale du corps. Dans d'autres cas, il est relié par un tractus mésenchymateux au feuillet pariétal du péritoine.

Le mésenchyme splanchnique de la région considérée est donc favorable au développement des bourgeons épithéliaux du foie. De plus, sous l'influence du greffon, il peut constituer un élément indépendant de la paroi du tube digestif et participer à la formation d'un lobe de foie surnuméraire situé dans la cavité coelomique.

2) *Implantation du greffon au niveau B.* — Les greffons évoluent dans ce cas dans la paroi même de l'intestin ou dans le mésentère, sans constituer une formation anatomiquement indépendante.

Généralement (dans 5 cas sur 7) le bourgeon endodermique greffé donne naissance à des travées de tissu hépatique caractéristique (fig. 42



Fig. 41. — Coupe transversale du petit lobe de foie obtenu en greffant les bourgeons épithéliaux hépatiques dans la partie antérieure de l'intestin grêle (niveau A indiqué sur la figure 40). Un conduit épithélial (C. E.) relie cette formation à l'intestin.

L'embryon a été sacrifié au 7^e jour de l'incubation, 4 jours 1/2 après l'implantation du greffon.

C. H. : Cordons hépatiques (Hématoxyline-Éosine, $\times 135$).

et 43), mais en quantité nettement moins importante que dans la série expérimentale précédente. Dans 2 de ces cas, le greffon s'est en partie développé dans le feuillet pariétal du péritoine et il s'est établi un pont mésenchymateux entre le mésentère et la paroi ventrale du corps (fig. 44). Dans deux autres cas, le greffon a fourni quelques formations épithéliales vésiculaires ne présentant pas les caractéristiques du tissu hépatique.

3) *Implantation du greffon au niveau C.* — Que le greffon se trouve placé dans la partie terminale de l'anse grêle ou dans le rectum, le résultat est sensiblement le même. Le développement de l'ébauche épithéliale du foie est beaucoup moins important que lorsque l'implantation est effectuée dans la partie antérieure de l'anse grêle. De plus, les tissus formés sont constitués par des cellules de type glandulaire mais qui ne sont pas nettement hépatiques, ou même des cellules sans caractère glandulaire évident. Dans un seul cas, il s'est formé des travées de foie caractéristiques.



Fig. 42. — Évolution des bourgeons épithéliaux du foie dans la paroi de l'anse grêle au niveau B indiqué sur la figure 40. Après 4 jours 1/2 de greffe, il s'est formé dans le mésenchyme de la paroi intestinale quelques cordons hépatiques (C. H.).

E. D. : Épithélium digestif ; m. c. : Marques de charbon accompagnant le greffon (H&M de Mayer, $\times 125$).

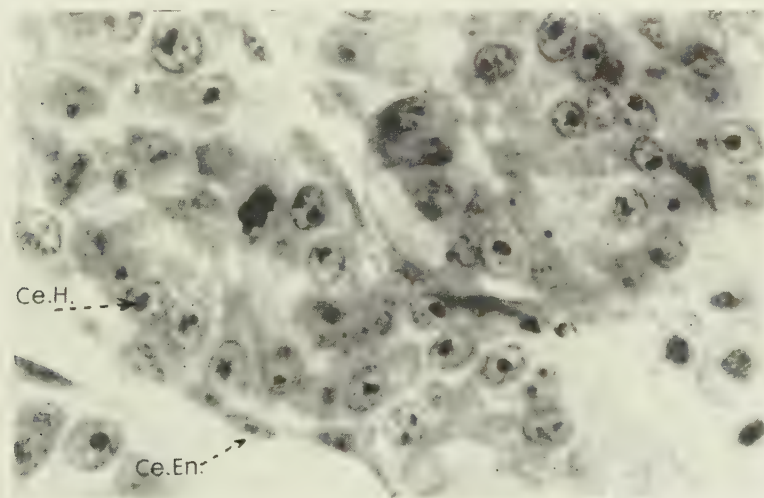


Fig. 43. — Détail d'une région de la figure précédente montrant les cellules hépatiques formées par les bourgeons de foie greffés dans la paroi de l'anse grêle.

Ce. H. : Cellules hépatiques ; Ce. En. : Cellules endothéliales des sinus sanguins ($\times 990$).

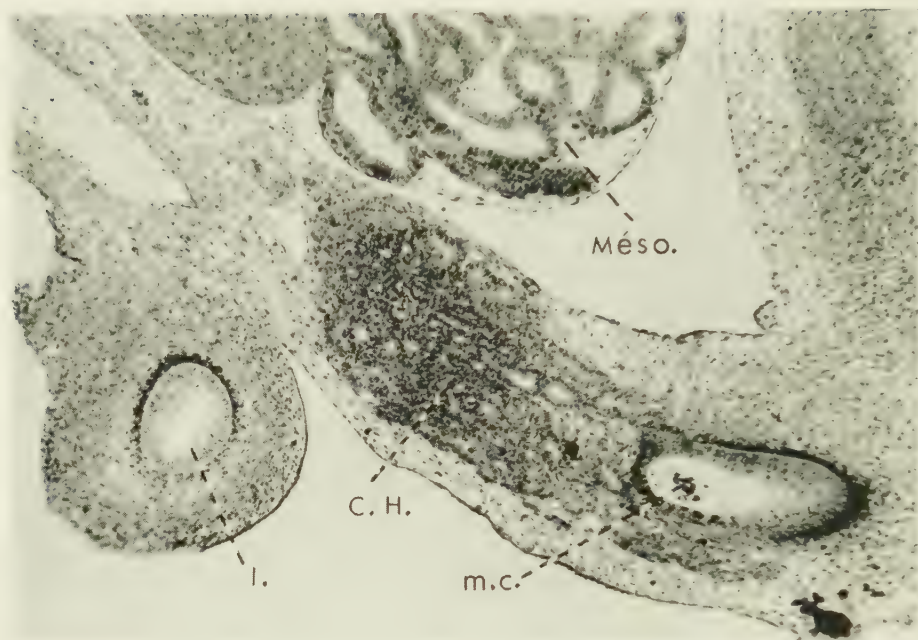


Fig. 44. — Pont mésenchymateux établi entre le mésentère et la paroi ventrale du corps, à l'endroit où les bourgeons épithéliaux du foie ont été greffés. Il s'y développe des cordons de cellules hépatiques (C. H.). Des marques de charbon (m. c.) accompagnaient le greffon.

Més. : Mésonéphros ; I. : Intestin grêle (Hémalun de Mayer, $\times 115$).

4) *Implantation au niveau D.* — Les résultats précédents sembleraient indiquer une diminution de l'aptitude du mésenchyme à permettre le développement des bourgeons épithéliaux hépatiques, lorsque l'on s'éloigne vers l'arrière du lieu normal de l'organogenèse du foie. Cependant, dans le mésenchyme cloacal l'ébauche épithéliale du foie trouve un milieu favorable à sa différenciation et à sa prolifération. Elle s'y développe abondamment en formant des travées de tissu hépatique caractéristique (fig. 45 et 46).

On voit donc que les mésenchymes du mésentère et de la paroi du tube digestif dans la région de la cavité abdomino-pelvienne sont d'une manière générale favorables au développement de l'ébauche épithéliale du foie. Cette propriété est répartie de façon inégale selon le niveau considéré. Le mésenchyme de la partie antérieure de l'anse grêle et celui du cloaque sont très favorables au développement de l'endoderme hépatique tandis que le mésenchyme de la région du gros intestin et celui de la partie terminale de l'anse grêle le sont moins. Toutefois, même dans ce dernier cas, le développement des bourgeons épithéliaux est nettement plus important que celui que l'on peut observer dans les mésenchymes du membre ou de la tête par exemple.



Fig. 45. — Coupe transversale de la région cloacale d'un embryon de 7 jours d'incubation. Des bourgeons épithéliaux hépatiques greffés dans le mésenchyme cloacal (M. Cl.) fournissent après 4 jours 1/2 de greffe, des cordons hépatiques (C. H.) assez abondants.

m. c. : Marques de charbon accompagnant le greffon (Hémalun de Mayer, $\times 135$).

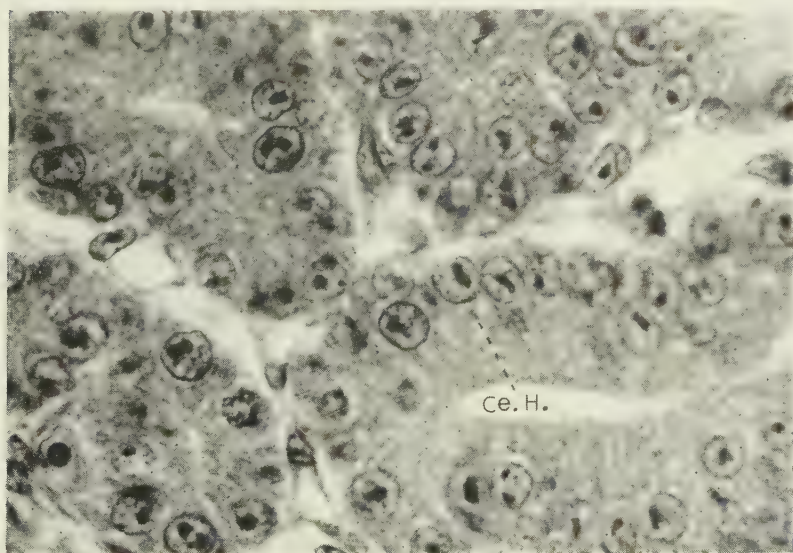


Fig. 46. — Détail de la coupe précédente montrant les cordons de cellules hépatiques.

Ce. H. : Cellules hépatiques ($\times 990$).

c) *Feuillet cœlomique pariétal.*

Afin d'obtenir l'implantation et le développement du greffon dans le seul feuillet cœlomique pariétal, j'ai utilisé dans cette série expérimentale des embryons plus avancés que précédemment et dont la cavité cœlomique est devenue suffisamment vaste. Les stades 16 à 17 de HAMBURGER et HAMILTON (1951) ont été choisis pour cette expérience. Les bourgeons hépatiques ont été implantés dans la paroi latérale du corps. L'examen histologique a été fait au 7^e jour de l'incubation.



Fig. 47. — Résultat de la greffe des bourgeons épithéliaux du foie dans le feuillet cœlomique pariétal au niveau du membre antérieur. Après 4 jours 1/2 de greffe, l'endoderme a fourni des travées de cellules hépatiques. Sous l'influence du greffon, l'épithélium cœlomique (Ep. Coe.) s'est épaissi et il s'est formé une poche mésenchymateuse dans laquelle s'insinuent les cordons hépatiques (C. H.) (Hématoxyline-Eosine, $\times 230$).

1) *Niveau du membre antérieur.* — La greffe est faite dans la paroi du corps au niveau transversal du bourgeon de membre. Dans les régions superficielles de la paroi du corps, le greffon donne naissance à de simples tubules épithéliaux. Au contraire, la partie du greffon qui atteint la couche profonde de la paroi thoracique donne naissance à des travées cellulaires de type hépatique.

Dans cette série expérimentale, un exemple particulièrement net de l'action exercée sur le mésenchyme de l'hôte par les bourgeons hépatiques

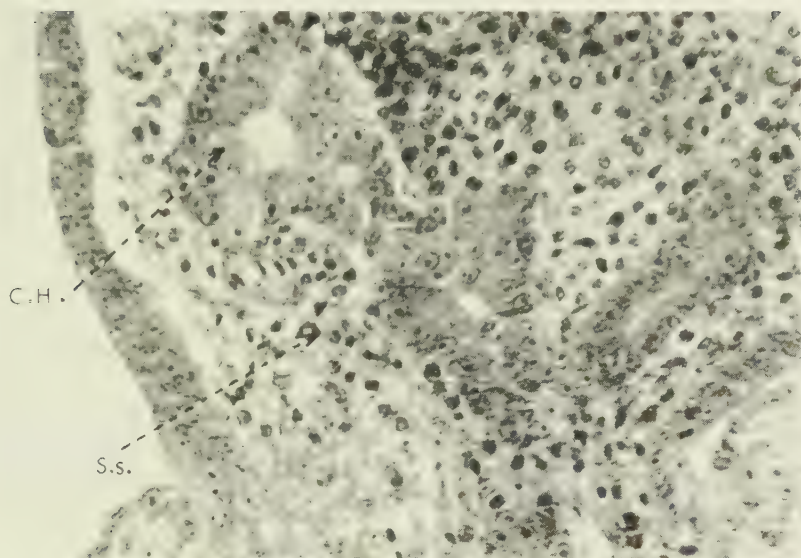


Fig. 48. — Détail de la coupe précédente montrant les cordons hépatiques (C. H.) entourés de sinusoides sanguins (S. s.) ($\times 530$).



Fig. 49. — Évolution des bourgeons épithéliaux du foie dans la paroi abdominale. Après 4 jours 1/2 de greffe, l'endoderme fournit des cordons hépatiques (C. H.) dans la couche mésenchymateuse interne de la paroi ventrale du corps (P. V.). Mésos. : Mésonéphros ; T. D. : tube digestif (Hémalun de Mayer, $\times 50$).

greffés a été observé. Les figures 47 et 48 montrent que chez cet embryon l'épithélium coelomique entourant le greffon s'est épaissi, a proliféré et a formé une poche dans laquelle les travées hépatiques ont pénétré. Elles sont entourées de vastes sinusoides contenant de nombreuses cellules sanguines. Cette formation rappelle le foie normal jeune. Ce résultat est à rapprocher de la formation d'un lobule hépatique qui est observé lorsque des bourgeons épithéliaux sont greffés dans la partie antérieure de l'anse grêle.

2) *Paroi de la cavité abdominale.* — Des bourgeons hépatiques introduits dans la paroi de la cavité abdominale fournissent quelques travées de cellules de foie. Celles-ci ne se développent que dans la couche conjonctive profonde de la paroi (fig. 49 et 50).

3) *Région pelvienne.* — Les bourgeons greffés dans la paroi du cloaque ont produit des travées hépatiques qui se sont largement répandues dans le mésenchyme du cul-de-sac pelvien. Dans cette région les deux feuillets de la séreuse péritonéale se soudent ; ils constituent un terrain très favorable au développement de l'ébauche épithéliale du foie.

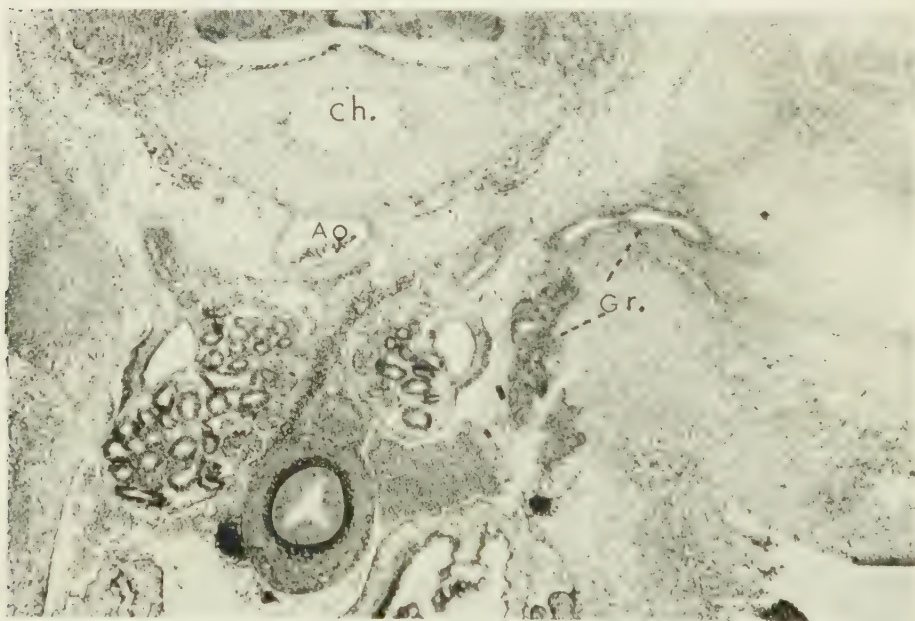


Fig. 50. — Coupe transversale d'un embryon de Poulet de 7 jours d'incubation, montrant l'évolution des bourgeons épithéliaux du foie dans le mésoderme somitique et celui de la paroi ventrale du corps. Après 4 jours 1/2 de greffe, les bourgeons hépatiques fournissent une vésicule épithéliale dans le mésoderme du tronc et des cellules hépatiques dans la couche mésenchymateuse profonde de la paroi abdominale.

Ao. : Aorte ; Gr. : Greffon ; Ch. : Chorde (Hémalun de Mayer, $\times 55$).

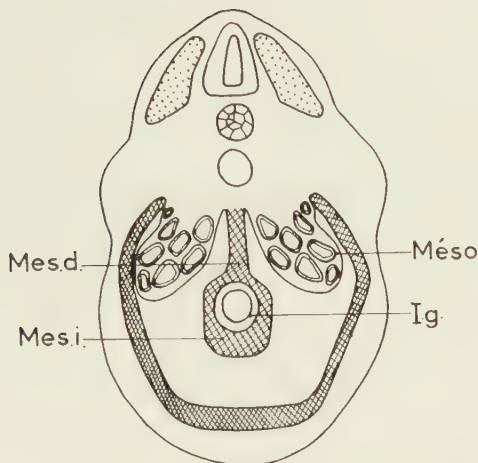


Fig. 51. — Coupe transversale schématisée de la région abdominale d'un embryon de 7 jours d'incubation. Les régions où les bourgeons épithéliaux du foie peuvent se développer sont hachurées. Elles correspondent au feuillet cœlomique pariétal et au mésentère.

I. g. : Intestin grêle ; Més. d. : Mésentère dorsal ; Més. i. : Mésentère intestinal ; Més. : Mésonephros.

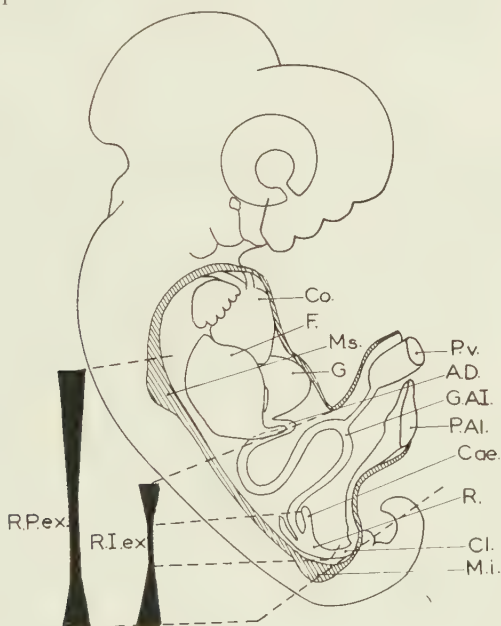


Fig. 52. — Semi-coupe longitudinale d'un embryon de Poulet de 6 à 7 jours d'incubation. Les différentes régions de la paroi du corps et du mésentère dans lesquelles on a greffé des bourgeons hépatiques sont indiquées :

R. P. ex. : Région pariétale explorée ; R. I. ex. : Région intestinale explorée.

L'épaisseur des traits noirs verticaux représentés à gauche montre l'importance du développement obtenu à différents niveaux. Les régions les plus favorables à la différenciation et à la prolifération des cellules des bourgeons hépatiques sont situées dans les parties antérieure et postérieure des territoires explorés.

A. D. : Anse duodénale ; Cæ. : Cæcum ; Cl. : Cloaque ; Co. : Cœur ; F. : Foie ; G. : Gésier ; G. A. I. : Grande anse intestinale ; M. i. : Membre inférieur ; M. s. : Membre supérieur ; P. A. I. : Pédicule allantoïdien ; P. v. : Pédicule vitellin ; R. : Rectum.

Les schémas représentés sur les figures 51 et 52 résument les résultats des expériences de greffe de bourgeons hépatiques dans les mésenchymes de la paroi coelomique externe et du mésentère. On voit que les meilleurs développements de ces bourgeons sont obtenus dans les parties crâniale et caudale des territoires explorés, aussi bien en ce qui concerne la paroi intestinale que la paroi pariétale du coelome. Remarquons que dans ces deux régions, il existe de nombreux points d'union entre la splanchnopleure et la somatopleure.

CONCLUSIONS

Les résultats des différentes séries expérimentales décrits dans ce chapitre permettent de conclure que l'organogenèse du foie fait intervenir des relations épithélio-mésenchymales comparables à celles qui ont été observées dans le cas de nombreux autres organes. Cependant, dans le cas du foie, ces relations n'ont pu être mises en évidence que grâce à une méthode expérimentale permettant d'empêcher la colonisation de la composante mésodermique de l'organe par les cordons épithéliaux. En effet, dans le développement normal la formation du mésenchyme hépatique et l'envahissement de ce tissu par les travées épithéliales sont des processus simultanés. Il en résulte que le foie n'est jamais constitué de deux couches tissulaires distinctes, ce qui explique que la composante mésenchymateuse n'a été signalée qu'au début du développement, au niveau du *septum transversum*, par les auteurs qui ont étudié l'organogenèse hépatique avec les seules méthodes de l'embryologie descriptive.

L'isolement expérimental du mésenchyme hépatique et de l'épithélium des bourgeons au début de leur formation a permis d'établir l'influence réciproque que ces deux tissus exercent l'un sur l'autre.

1^o L'ébauche épithéliale du foie prélevée et isolée au début de l'organogenèse hépatique ne peut poursuivre son évolution normale lorsqu'elle est privée de support mésenchymateux.

2^o Certains mésenchymes ne permettent pas à l'ébauche épithéliale du foie d'exprimer ses potentialités histogénétiques. Lorsqu'elle est associée à de tels tissus, l'ébauche endodermique ne forme que des vésicules épithéliales qui ne présentent pas les caractéristiques de la différenciation glandulaire. Dans cette catégorie de mésenchymes on peut citer ceux de la tête et du bourgeon de membre.

3^o L'association de bourgeons épithéliaux et de mésenchyme hépatique dont on a provoqué le développement à l'état isolé peut être réalisée *in ovo* — par la méthode des greffes — ou *in vitro* en culture organotypique. Dans les deux cas, l'histogenèse hépatique normale s'accomplit. Le mésenchyme permet la prolifération des cellules épithéliales et provoque leur différenciation en cellules hépatiques. L'activité physiologique de travées hépatiques ainsi formées peut être mise en évidence par la détection histo-

chimique du glycogène. En culture *in vitro*, les cellules hépatiques de l'explant acquièrent en quelques jours la propriété d'accumuler du glycogène.

4° D'autres mésenchymes que celui du foie lui-même peuvent être favorables à la différenciation des cellules hépatiques, mais ils en activent moins la prolifération. Le rôle du mésenchyme hépatique n'est donc pas strictement spécifique. Les mésenchymes hétérologues favorables, à des degrés divers, à la différenciation de l'endoderme hépatique appartiennent au poumon, à la paroi du tube digestif, au mésentère et au feuillet cœlomique pariétal. Ce sont donc des tissus ayant une parenté embryologique puisqu'ils dérivent tous de la splanchnopleure et des sacs cœlomiques. Cette origine les rapproche du mésenchyme propre du foie.

CHAPITRE III

L'ORIGINE DE L'ENDOTHÉLIUM DES SINUS SANGUINS DU FOIE

A. — Historique.

La circulation veineuse intra-hépatique présente la particularité d'être canalisée par un réseau de sinusoides formant des cavités de forme irrégulière. La paroi de ces sinusoides diffère de celle des capillaires sanguins. Elle est en effet constituée d'un endothélium appliqué étroitement contre les cellules des travées hépatiques sans interposition d'une adventice mésenchymateuse (GERLACH, 1849 ; BEALE, 1856 ; PFLÜGER, 1869). MINOT (1900 *b*) a souligné ces caractéristiques de la vascularisation du foie et insisté sur la signification physiologique de l'absence d'adventice au niveau des sinusoides. En effet, le contact intime entre les cellules glandulaires et le sang est particulièrement favorable aux échanges métaboliques. Récemment, la microscopie électronique a confirmé et précisé ces données. L'étude de la bordure endothéliale des sinusoides hépatiques et de ses rapports avec les cellules glandulaires montre que les hépatocytes ne sont séparés de l'endothélium que par de très petites cavités, les « espaces de Disse ». Ces derniers sont traversés par de fins prolongements cytoplasmiques provenant des cellules hépatiques, les microvillosités, qui augmentent considérablement la surface d'échange entre les cellules glandulaires et le sang. Cette surface est déjà très importante si l'on ne tient compte que de l'étendue du réseau des sinusoides (FAWCETT, 1955 ; PARKS, 1956 ; POPPER et SCHAFFNER, 1957 ; WASSERMAN, 1958 ; ROUILLER et JÉZÉQUEL, 1963).

La formation des sinusoides intra-hépatiques s'accomplit en même temps que celle des travées épithéliales. Selon de nombreux auteurs (CHORONSHITZKY, 1900 ; GOETTE, 1867 ; SHORE, 1891 ; FROBEEN, 1892 ; HAMMAR, 1893), la vascularisation du foie naît de bourgeons vasculaires qui sont émis, dès le troisième jour de l'incubation chez l'embryon de Poulet, par les parois du *ductus venosus* et du sinus veineux. Ensuite, lorsque le foie s'étend vers l'arrière, le même processus s'effectue à partir des veines omphalo-mésentérique et ombilicale. Le tissu hépatique se constituerait ainsi par le développement simultané et l'interpénétration des éléments endothéliaux d'origine vasculaire et des travées de cellules de foie (« interescence » MINOT, 1900 *b*).

L'absence d'éléments mésenchymateux apparents pendant l'organogenèse hépatique est soulignée par MINOT qui insiste sur le fait que, dès le début du développement, le foie n'est constitué que par le parenchyme hépatique et par l'endothélium des vaisseaux. « All the blood vessels are merely subdivisions of the venous channel

and the subdivision is due to the complicated and perfect interescence of the wall of the vein on the one hand and the liver epithelium on the other, these two tissues alone form the embryonic liver. » Selon MINOT, le tissu conjonctif n'apparaît qu'assez tard dans le développement pour former la capsule de Glisson. Celle-ci émet dans le tissu hépatique des travées conjonctives divisant le foie en lobules. Dans ces dissépinements une circulation capillaire provenant de l'artère hépatique s'établit alors.

Certains auteurs (MOLLIER, 1909 ; NEUMANN, 1914 ; LIPP, 1952) considèrent qu'il ne faut pas écarter l'hypothèse d'une transformation en cellules endothéliales des cellules mésenchymateuses du *septum transversum*, dans lequel les travées du foie s'insinuent.

HAFF (1914) attire l'attention sur le fait que chez l'embryon de Poulet de 4 à 5 jours d'incubation, il existe à la périphérie du foie un peu de tissu mésenchymateux entre les travées hépatiques et l'endothélium des sinusoides. Dans cette région l'endothélium a tendance à perdre ses caractéristiques et à se confondre avec les cellules de mésenchyme. Pendant le 6^e jour ce mésenchyme extravasculaire disparaît tandis que le foie s'accroît considérablement.

Plus récemment, HAMMOND (1939) étudiant le développement des sinus sanguins du foie chez le Rat et le Chat, pense que l'endothélium est en partie d'origine vasculaire (*ductus venosus*, veines omphalomésentérique et ombilicale) et dérive également de la transformation des cellules mésenchymales du *septum transversum*.

Enfin KINGSBURY, ALEXANDERSON et KORNSTEIN (1956) signalent, chez l'embryon de Poulet, l'existence dans le *septum transversum* de capillaires communiquant avec le *ductus venosus* avant l'invasion du mésenchyme par les travées cellulaires hépatiques.

L'origine des cellules endothéliales des sinus sanguins est donc mal élucidée. L'isolement du mésenchyme hépatique m'a permis de faire un certain nombre d'observations concernant l'origine des cellules bordantes des sinus sanguins du foie. J'ai tout d'abord étudié les propriétés du mésenchyme lorsqu'il est dépourvu des cordons hépatiques glandulaires et j'ai observé les transformations qu'il subit lorsqu'il est colonisé par les travées de cellules de foie.

B. — Rôle de la composante mésodermique du foie dans la formation des sinusoides.

1^o *Caractères du mésenchyme hépatique isolé expérimentalement.*

Ces caractères ont été étudiés au 5^e jour de l'incubation sur des coupes transversales intéressant la région du mésenchyme hépatique isolé par la méthode des obstacles. La composante mésenchymateuse du lobe gauche s'observe à un niveau plus crânial que celle du lobe droit. Ceci concorde avec les observations de BROUHA (1898 *b*) qui considérait le lobe gauche comme étant la portion antérieure du foie. A gauche, le mésenchyme hépatique se développe le long de la veine ombilicale et est rattaché à la paroi du corps (fig. 53).

Comme le fait le lobe droit du foie dans l'organogenèse normale, sa composante mésenchymateuse se forme le long de la veine omphalomésentérique puis s'en isole dans sa partie la plus caudale.

A l'examen histologique le mésenchyme hépatique présente un aspect spongieux. Il est constitué par des travées cellulaires disposées radialement par rapport à la veine centrale et anastomosées entre elles. Dans les mailles du réseau qu'elles constituent se trouvent de vastes lacunes sanguines communiquant largement avec la lumière de la veine (fig. 54).

Il convient de remarquer la similitude entre ces lacunes sanguinées du mésenchyme hépatique et les sinus sanguins du foie.

Les communications entre la veine et les sinus du mésenchyme hépatique sont tout à fait comparables aux bourgeons veineux (« bay-like extensions from the ductus venosus ») décrits par certains auteurs aux premiers stades du développement normal du foie (KINGSBURY, ALEXANDERSON et KORNSTEIN, 1956 ; CHORONSHITZKY, 1900).



Fig. 53. — Coupe transversale d'un embryon de 5 jours d'incubation sur lequel deux obstacles transversaux ont été placés au stade de 12 somites. L'endoderme intestinal (E. I.) n'a pas constitué un tube. Dans les cavités cœlomiques, on voit l'ébauche mésenchymateuse des deux lobes du foie. A gauche, le mésenchyme hépatique (M. H. g.) se développe le long de la veine ombilicale (V. omb.).

M. H. d. : Mésenchyme hépatique droit ; M. D. : Mésentère dorsal (Hématoxyline-Éosine, $\times 50$).

La structure des travées cellulaires est la suivante : elles sont limitées par une couche de cellules mésenchymateuses ne présentant pas toutes les caractéristiques de cellules endothéliales des sinusoides hépatiques. En effet, leurs noyaux sont en général rapprochés les uns des autres et

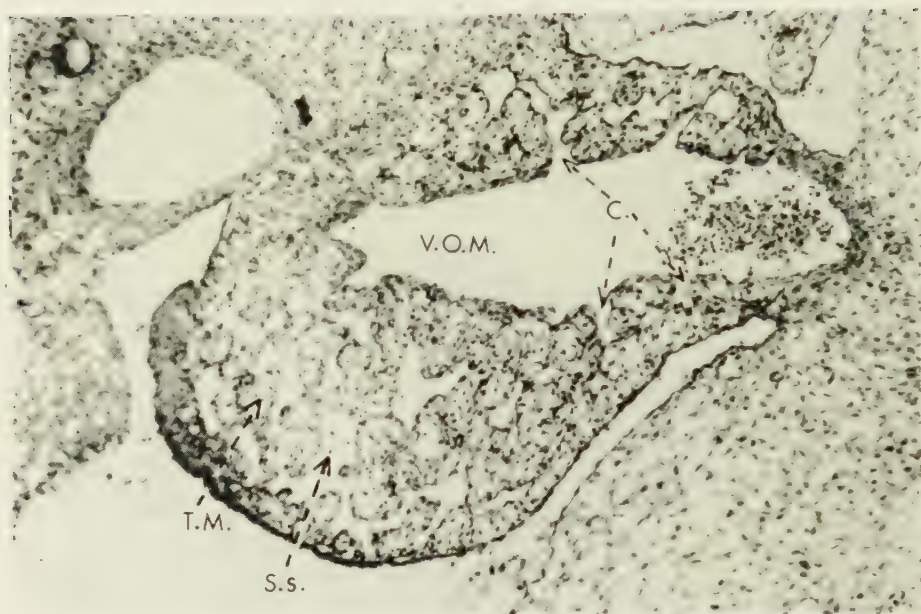


Fig. 54. — Mésenchyme hépatique (droit) d'un embryon de 5 jours 1/2 d'incubation. Entre les travées mésenchymateuses (T. M.), on voit de vastes sinusoides sanguins (S. s.) qui communiquent largement avec la veine omphalo-mésentérique (V. O. M.).

C. : Communication des sinusoides du mésenchyme hépatique avec la veine centrale (Hématoxyline-Eosine, $\times 120$).

arrondis ou ovoïdes, mais non aplatis. Elles sont réunies par des prolongements cytoplasmiques à d'autres cellules mesenchymales du même type se trouvant à l'intérieur des travées.

Les expériences consistant à greffer dans la région présomptive du mésenchyme hépatique des bourgeons épithéliaux de foie m'ont permis de suivre les transformations subies par ce mésenchyme sous l'influence des cordons glandulaires.

2° Transformation et multiplication des cellules du mésenchyme hépatique sous l'influence des travées glandulaires du foie.

Les expériences consistant à greffer des bourgeons endodermiques du foie dans l'aire présomptive du mésenchyme hépatique permettent de suivre la transformation des cellules mésenchymateuses. En effet, le greffon ne commence à fournir de cordons hépatiques qu'à la fin du 1^{er} jour de l'incubation de l'hôte. Ce retard est dû au laps de temps nécessaire à l'implantation du greffon et à la reprise de son activité dans le nouveau milieu où il se trouve placé. A ce moment, le mésenchyme hépa-

tique a déjà commencé son développement. C'est donc une ébauche mésenchymateuse déjà constituée que les cordons épithéliaux vont envahir et il ne s'agit plus du développement simultané des deux ébauches comme cela s'observe dans l'organogenèse normale du foie.

Les cordons épithéliaux empruntent la voie qui leur est tracée par les travées de cellules mésenchymateuses. Ils s'insinuent à l'intérieur de la gaine de cellules limitantes et repoussent sur les bords les cellules mésenchymales qui se trouvaient à l'intérieur des travées. Donc, pendant un certain laps de temps (5^e jour de l'incubation de l'hôte), les cordons

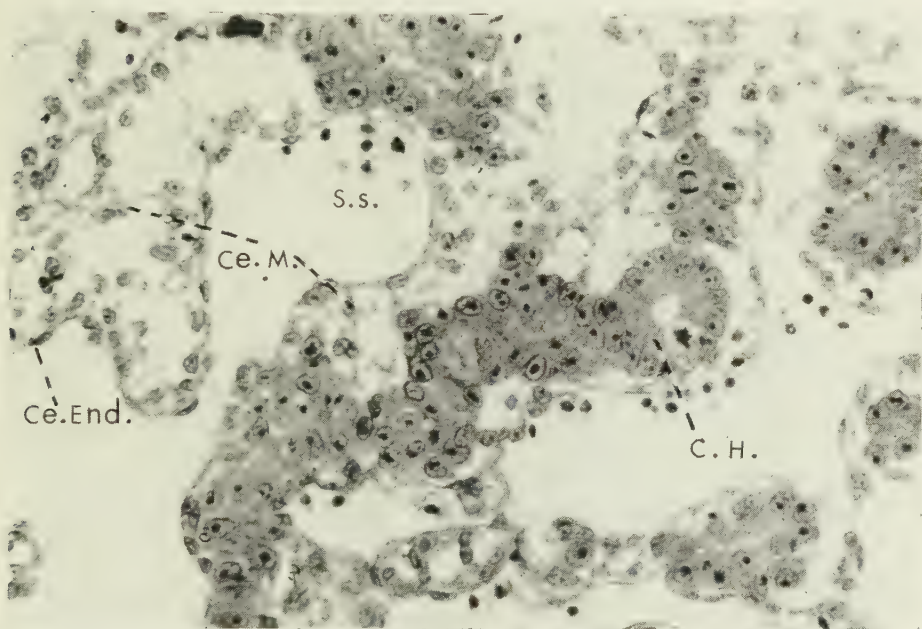


Fig. 55. — Mésenchyme hépatique partiellement colonisé par les cordons hépatiques (C. H.) qui s'insinuent dans les travées mésenchymateuses (Embryon de 5 jours d'incubation).

Ce. End. : Cellules endothéliales ; Ce. M. : Cellules mésenchymateuses ; S. s. : Sinusoïdes sanguins (Hématoxyline-Éosine, $\times 430$).

hépatiques nouvellement formés sont entourés de cellules mésenchymateuses (fig. 55 et 56).

Les coupes pratiquées aux 6^e et 7^e jours de l'incubation présentent un aspect tout différent. La couche de cellules limitantes des travées mésenchymales est devenue un véritable endothélium (fig. 57 et 58). Ces cellules possèdent une mince couche cytoplasmique et des noyaux très aplatis. On ne voit plus de cellules mésenchymales entre l'endothélium et les cordons glandulaires. Le lobe hépatique formé a beaucoup augmenté de volume par suite de la ramification des travées hépatiques. On peut penser



Fig. 56. — Détail d'une travée mésenchymateuse partiellement envahie par les cordons de cellules hépatiques (Ce. H.). Les cellules mésenchymateuses (Ce. M.) sont repoussées latéralement.

Ce. End. : Cellules endothéliales (Hématoxyline-Éosine, $\times 750$).

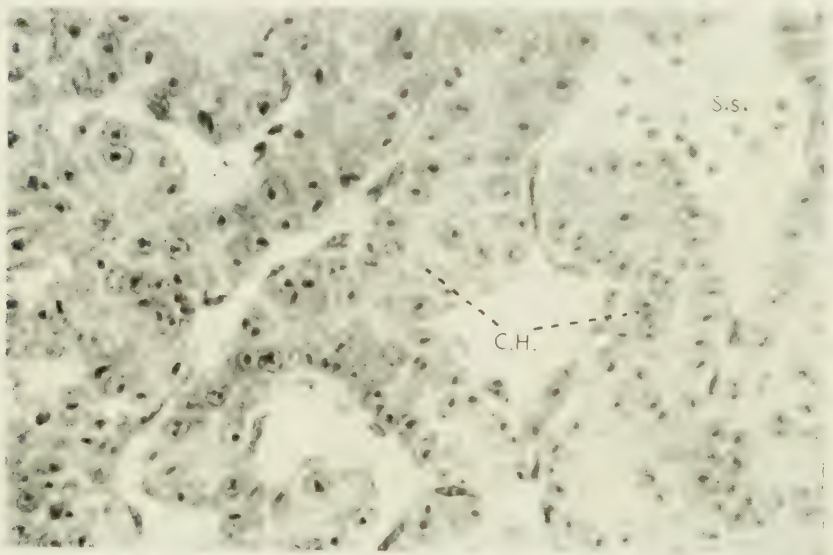


Fig. 57. — Travées mésenchymateuses complètement colonisées par les cordons hépatiques (C. H.) (Embryon de 7 jours d'incubation).

S. s. : Sinusoïdes sanguins (Hématoxyline-Éosine, $\times 260$).

que les cellules intermédiaires ont été utilisées pour constituer l'endothélium des travées en voie d'accroissement. De plus, les cellules bordantes des travées mésenchymateuses ont été étirées sous l'influence des cordons hépatiques en voie d'allongement. Quelques mitoses sont visibles au niveau de l'endothélium. A ce stade, les cellules mésenchymateuses proprement dites ont disparu dans le foie. On peut penser qu'elles ont été transformées en cellules endothéliales des sinus sanguins.

Ces observations suggèrent que la paroi endothéliale des sinus sanguins du foie provient en grande partie de la transformation de cellules mésenchymateuses. Ces dernières appartiennent à l'ébauche mésodermique du foie (*septum transversum* et ses prolongements latéraux et postérieurs) qui peut se constituer autour des veines indépendamment des cordons

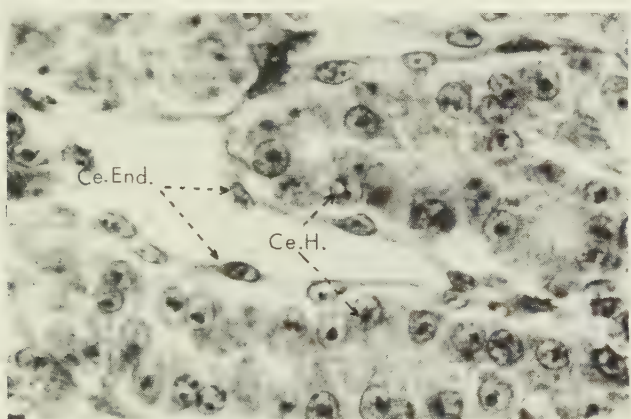


Fig. 58. — Détail des travées hépatiques montrant les cellules hépatiques (Ce. H.) et les cellules endothéliales (Ce. End.). Les cellules mésenchymateuses ne sont plus visibles entre les cordons hépatiques et l'endothélium (Hématoxyline-Éosine, $\times 750$).

hépatiques. Ainsi, l'hypothèse de certains auteurs (MOLLIER, 1909 ; NEUMANN, 1914 ; HAMMOND, 1939) qui considéraient comme possible l'origine mésenchymateuse de l'endothélium des sinus sanguins se trouve renforcée. Au contraire la description faite par MINOT (1900 *b*) de la formation de l'endothélium paraît insuffisante. Selon cet auteur, les cordons hépatiques pénètrent dans la lumière de la veine et entraînent l'endothélium en avant d'eux. De cette façon, ils acquièrent leur revêtement endothélial et partagent la cavité de la veine en sinusoides. Nous voyons en effet que des sinusoides se forment dans le mésenchyme qui entoure la veine. Cette dernière n'est fragmentée que plus tard dans le développement, lorsque les cordons hépatiques se multiplient très activement en utilisant toute la place disponible.

C. Formation de sinusôides dans des mésenchymes hétérologues
sous l'influence des cordons hépatiques.

Les bourgeons épithéliaux du foie greffés *in ovo* dans des mésenchymes hétérologues, fournissent dans certains cas des travées de tissu hépatique caractéristique. Il se constitue alors, entre les cordons épithéliaux, des sinus sanguins tapissés d'une paroi endothéliale étroitement appliquée contre les cellules glandulaires. Ainsi sous l'influence du tissu hépatique la vascularisation devient beaucoup plus importante dans le mésenchyme récepteur qu'elle ne l'est normalement (fig. 59).

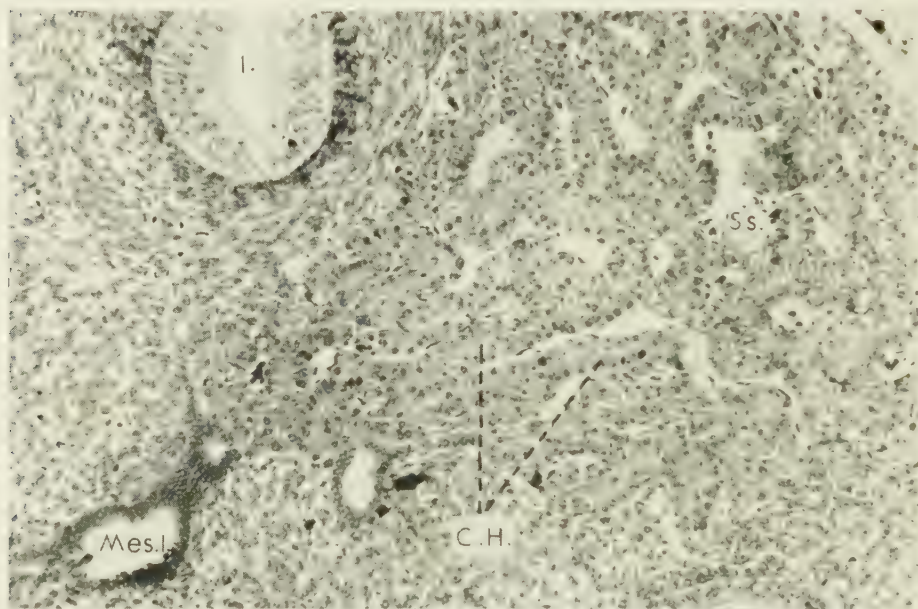


Fig. 59. — Paroi de l'intestin dans laquelle des bourgeons hépatiques ont été greffés. Des cordons hépatiques (C. H.) se sont développés dans le mésenchyme intestinal (Més. I.) et une vascularisation importante s'est établie au niveau de l'implantation sous la forme de sinusôides sanguins (S. s.).
I. : Intestin (Hématoxyline-Éosine, $\times 190$).

Les transformations les plus importantes produites dans le mésenchyme hôte par les bourgeons hépatiques sont celles que l'on observe dans la partie antérieure de la grande anse intestinale et dans le feuillet cœlomique pariétal au niveau du membre antérieur. Les figures 41, 47 et 48 montrent deux stades de l'évolution du mésenchyme : sous l'influence des travées hépatiques, l'épithélium cœlomique s'épaissit, prolifère et il se forme une petite masse mésenchymateuse dans laquelle s'insinuent les travées hépatiques. Entre ces travées se trouvent de larges sinus sanguins sem-

blables à ceux du foie jeune (fig. 47 et 48). Lorsque la prolifération des cellules hépatiques est plus active, comme c'est le cas dans le mésenchyme de la paroi intestinale, les travées cellulaires deviennent abondantes et les sinus plus étroits. Un véritable lobe de foie se constitue (fig. 41).

Dans la partie moyenne de l'intestin grêle et dans le cloaque, le mésenchyme qui se trouve autour du greffon ne forme pas un lobule indépendant mais permet cependant l'établissement d'un important réseau vasculaire. On voit que les cellules du mésenchyme récepteur sont aplaties au contact

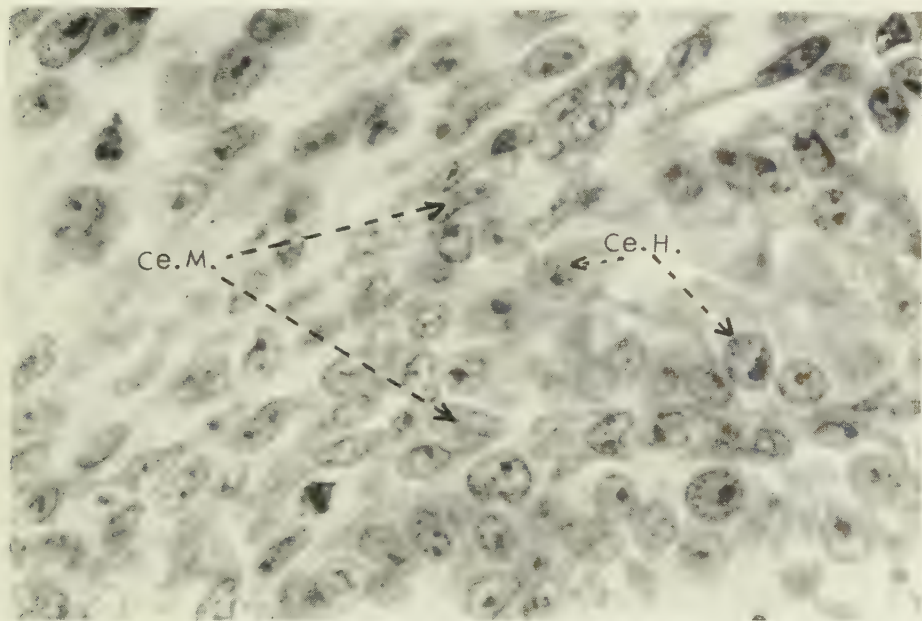


Fig. 60. — Modifications des cellules du mésenchyme cloacal au contact des cellules hépatiques (Ce. H.) provenant d'un greffon d'endoderme présomptif du foie. Les cellules mésenchymales (Ce. M.) s'aplatissent et entourent les cordons de cellules hépatiques (Hématoxyline-Eosine, $\times 1.100$).

des cordons hépatiques (fig. 60) et semblent par endroits être en continuité avec l'endothélium des sinus sanguins qui se sont formés.

Dans d'autres régions comme le feuillet pariétal du péritoine au niveau de la cavité abdominale, les travées hépatiques sont plus tassées et la vascularisation moins importante. Toutefois, la même structure est réalisée.

Ces différentes observations nous inclinent à penser que l'endothélium des sinus sanguins qui se forment au contact des travées hépatiques provient, au moins en partie, de la transformation des cellules du mésenchyme récepteur.

CONCLUSIONS

1° La formation du mésenchyme hépatique est indépendante de la présence de travées épithéliales. Elle s'accomplit parfaitement sans elles.

2° Le mésenchyme hépatique se développe en liaison étroite avec le *ductus venosus*, les veines omphalo-mésentérique et ombilicale. Sa vascularisation est veineuse et se fait dans des sortes de sinus sanguins.

3° Il semble qu'au contact des travées épithéliales du foie, les cellules du mésenchyme hépatique deviennent les cellules endothéliales des sinus sanguins. Il en est vraisemblablement de même des cellules de divers mésenchymes hétérologues qui sont favorables à l'évolution de l'endoderme hépatique.

4° La présence des sinus sanguins n'est pas nécessaire au développement des travées cellulaires hépatiques puisque ces dernières peuvent prendre naissance dans des tissus où ces lacunes ne préexistent pas, comme dans la paroi du corps ou de l'intestin. La nature du mésenchyme joue seule un rôle dans la différenciation des cellules hépatiques comme le montrent les associations réalisées *in vitro*.

Les observations réalisées sur le foie paraissent apporter un argument en faveur de la théorie de la formation *in situ* de l'endothélium des vaisseaux (McCLURE, 1921). REAGAN, en 1917, considérait que de nouveaux vaisseaux pouvaient se former dans le corps de l'embryon au cours du développement à partir de cellules mésenchymateuses capables de se transformer en angioblastes et en cellules endothéliales. Le cas du foie semble être un exemple de cette possibilité.

CHAPITRE IV

L'INDUCTION DE L'ENDODERME PRÉ-HÉPATIQUE
PAR LE MÉSODERME DE L'AIRE CARDIAQUE

Les expériences précédemment décrites ont montré que l'endoderme hépatique est déjà déterminé au stade où il subit l'action morphogène du mésenchyme propre du foie. En effet, un fragment d'endoderme prélevé dans le territoire présomptif de l'intestin grêle au stade de 12 à 15 somites ne fournit pas de cellules hépatiques lorsqu'il est greffé dans le mésenchyme propre du foie. D'autre part, lorsque l'aire hépatique présomptive est divisée en deux parties par un obstacle, l'endoderme de la région postérieure ne forme pas de foie bien qu'il soit en contact avec le mésenchyme hépatique.

J'ai cherché s'il était possible de trouver le facteur responsable de la détermination de l'endoderme hépatique.

RAPPEL HISTORIQUE

Les aires hépatiques présomptives ont été localisées dans le blastoderme à des stades très précoces du développement. La méthode utilisée par différents auteurs a consisté à greffer des fragments déterminés du blastoderme dans la membrane chorio-allantoïdienne d'embryons de 8 jours d'incubation, puis à observer quels sont les tissus qui se sont différenciés dans les greffons après quelques jours d'évolution. Cette méthode ne permet pas de connaître la destinée réelle des territoires embryonnaires au cours du développement normal. En effet, des phénomènes de régulation peuvent intervenir dans les territoires isolés des régions avoisinantes. De plus, on sait qu'au début du développement les aires présomptives des organes sont relativement plus étendues qu'au moment où l'organogenèse débute et qu'elles se restreignent progressivement pour se trouver réduites finalement aux seules cellules qui fourniront les organes considérés. Cependant cette méthode permet de connaître quelles sont à un stade donné les potentialités histogénétiques d'un territoire embryonnaire.

RUDNICK (1932) montre qu'au stade de la ligne primitive définitive les potentialités hépatiques sont situées dans la région antérieure du blastoderme, aussi bien dans la partie médiane que latéralement. Plus tard, au stade du prolongement céphalique, elles se réduisent à deux aires latérales, la partie médiane comprenant le nœud de Hensen ne fournissant plus de foie. RAWLES (1936) précise les limites de ces aires latérales : elles s'étendent jusqu'au niveau moyen du prolongement céphalique en avant et le long du tiers antérieur de la ligne primitive en arrière et coïncident d'ailleurs avec les aires cardiaques. RAWLES remarque que dans les greffons la présence de foie ne s'observe que lorsque du tissu cardiaque se trouve à son contact. Ce fait avait déjà été signalé par HUNT (1931, 1932) dans une étude des potentialités histogénétiques de la région du nœud de Hensen au stade de la ligne primitive. WILLIER et RAWLES (1931) ont aussi trouvé la relation existant entre la différenciation de tissu hépatique et celle du cœur dans une expérience un peu différente. Ils greffent dans la membrane chorio-allantoïdienne la totalité de l'aire pellucide de blastodermes à différents stades du développement, depuis la ligne primitive définitive jusqu'à 11 paires de somites. Un certain nombre de structures embryonnaires se différencient dans les greffons. À l'exception d'un cas sur 24 le tissu hépatique est toujours accompagné de tissu cardiaque. Par contre, dans 8 cas sur 32, le greffon contient du tissu cardiaque et pas de tissu hépatique.

D'autres observations de ces mêmes auteurs présentent un grand intérêt. En greffe chorio-allantoïdienne, les mouvements morphogénétiques des tissus embryonnaires ne peuvent pas s'accomplir normalement. Dans un certain nombre de cas, il en résulte que les deux primordia cardiaques ne fusionnent pas et il se développe deux amas de tissu cardiaque indépendants. On trouve alors deux masses de tissu hépatique associées aux deux cœurs.

La diplocardie expérimentale réalisée *in ovo* par plusieurs auteurs (WARYNSKY et FOL, 1884 ; WARYNSKY, 1884 ; WOLFF, 1933 c) a permis de voir également qu'à chaque cœur est associé un fragment de tissu hépatique. Les monstres à cœurs multiples obtenus par GRÄPER (1907) présentent également un lobe de foie associé à chaque cœur. La *multiplicitas cordis* est donc accompagnée de *multiplicitas hepatis*. En se basant sur les observations de GRÄPER, on peut penser que le cas célèbre d'heptocardie spontanée chez le Poulet décrit par VEROCAÿ (1905) devait comporter 7 foies.

Il apparaît à la suite des observations qui viennent d'être rapportées que l'évolution du foie semble liée à celle du cœur aux stades précoces du développement. Cependant aucune des observations relatives à cette dépendance ne peut fournir autre chose qu'une hypothèse. La preuve que le tissu cardiaque ou précardiaque exerce une action déterminante sur le développement du foie restait à établir.

Comme je l'ai dit précédemment, l'endoderme hépatique prélevé dans le repli cardiaque des embryons de 20 à 22 somites est déjà induit à former

du foie. Mon but étant de trouver quel est le facteur responsable de cette induction, j'ai dans une première étape cherché à quel stade elle se produit. J'ai prélevé l'endoderme présomptif du foie à des stades de plus en plus précoces du développement et j'en ai étudié l'évolution dans du mésenchyme hépatique.

A. — Association de l'endoderme présomptif du foie,
prélevé à différents stades du développement,
avec le mésenchyme hépatique.

L'association est réalisée *in ovo*. Elle consiste, comme dans les expériences précédentes, à greffer l'endoderme dans l'aire présomptive du mésenchyme hépatique isolé expérimentalement au stade de 9 à 13 somites.

Deux séries expérimentales ont été réalisées :

1° L'endoderme du repli cardiaque est prélevé entre les stades de 5 à 16 somites.

2° L'endoderme est prélevé dans les aires présomptives hépatiques bilatérales chez des embryons aux stades du prolongement céphalique et du repli céphalique transverse.

1° *Endoderme hépatique prélevé aux stades de 5 à 16 somites.*

L'endoderme est isolé du mésenchyme du repli cardiaque par action de la trypsine, puis greffé dans l'aire présomptive du mésenchyme hépatique chez un embryon de 9 à 13 somites. Les résultats sont observés au 5^e jour de l'incubation de l'hôte. Si l'endoderme greffé fournit des cordons de foie dans ces conditions, on peut en déduire qu'il est déjà induit puisqu'il se comporte différemment d'un fragment quelconque d'endoderme digestif.

Le tableau IX indique les résultats obtenus.

TABEAU IX

*Évolution dans le mésenchyme hépatique de l'endoderme
du repli cardiaque prélevé entre les stades de 5 à 16 somites.*

Stades du donneur	Nombre de cas	Formation de tissu hépatique (Nombre de cas)
12 à 16 somites.	7	6
8 à 11 somites.	6	6
5 à 7 somites.	10	9
Total	23	21

Dans 2 cas sur 23, le greffon n'a pas été retrouvé à l'examen histologique. Dans tous les autres cas, on observe que l'endoderme greffé s'est différencié en cellules hépatiques. Par conséquent, on peut conclure qu'au stade de 5 somites l'endoderme hépatique est déjà induit.

*2^o Endoderme des aires présumptives du foie,
prélevé aux stades du prolongement céphalique
et du repli céphalique transverse.*

Les embryons utilisés dans cette série expérimentale appartenaient aux stades du prolongement céphalique âgé et du repli céphalique transverse. L'aire présumptive du foie a été découpée comme l'indique la

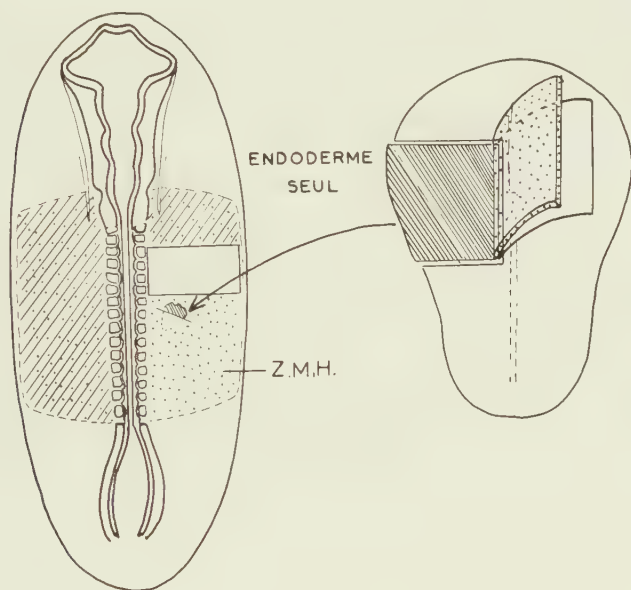


Fig. 61. — Isolement de l'endoderme présomptif du foie au stade du prolongement céphalique et association de cet endoderme avec le mésenchyme hépatique.

A droite, blastoderme au stade du prolongement céphalique dans lequel est découpée une des deux aires hépatiques. On a représenté schématiquement en hachures l'endoderme décollé des autres feuillets. Cet endoderme est transplanté dans l'aire présumptive du mésenchyme hépatique (Z. M. H.) chez un embryon de 12 somites, en arrière d'une excision de l'aire latérale. Cette excision empêche la colonisation du mésenchyme hépatique par les cordons épithéliaux de l'embryon hôte.

figure 61, d'après les données établies par RAWLES (1936). La limite antérieure du fragment prélevé correspondait à celle du feuillet mésodermique.

La dissociation de l'endoderme et du mésoderme est délicate à ce stade par suite de la finesse du feuillet endodermique. Elle a été obtenue en utilisant une solution de trypsine diluée à 0,5 ‰ dans du liquide de

Moscona. Le traitement à la trypsine est appliqué à la température d'environ 2° C pendant une demi-heure. L'ectoderme se décolle le premier, tandis que les feuillets endomésodermiques adhèrent encore assez étroitement l'un à l'autre. Leur dissociation intervient un peu plus tard. La séparation complète des deux tissus est réalisée à l'aide de deux très fines aiguilles. Si la moindre union existe encore en certains points entre les deux tissus, l'endoderme peut entraîner en se décollant quelques cellules mésenchymateuses.

A un stade plus précoce, le feuillet endodermique est si fin et surtout si peu cohérent qu'il est difficile de le séparer convenablement du mésenchyme.

Le fragment endodermique est rincé dans du liquide de Tyrode additionné de sérum de cheval, puis greffé en arrière d'un obstacle dans l'aire latérale d'un embryon de 9 à 13 somites comme précédemment (fig. 61). L'évolution de cet endoderme est étudiée au 5^e jour de l'incubation de l'hôte.

Le tableau X indique les résultats obtenus.

TABLEAU X

Évolution de l'endoderme des aires présomptives du foie prélevé aux stades du prolongement céphalique (P. C.) et du repli céphalique transverse (R. C. T.) et associé au mésenchyme hépatique.

Stade du donneur	Nombre de cas	Formation de tissu hépatique (Nombre de cas)	
		—	—
P. C.	11	9	2
R. C. T.	28	25	3
Total.	39	34	5

Dans tous les cas de cette série expérimentale, l'endoderme greffé a été retrouvé en bon état. Des marques de charbon qui l'accompagnaient au moment de la greffe permettent de l'identifier facilement. Bien qu'ayant été inséré dans une fente pratiquée dans les 3 feuillets embryonnaires, il se localise toujours dans la couche des cellules endodermiques de l'hôte, montrant ainsi une fois de plus la tendance qu'ont les cellules à s'associer à des cellules de même sorte. La figure 62 montre la coaptation de l'endoderme greffé avec celui de l'embryon receveur, on peut encore distinguer le niveau de la soudure des deux tissus. Au 6^e jour de l'incubation, l'endoderme du greffon se confond totalement avec celui de l'embryon receveur.

Dans la grande majorité des cas (89,5 0/0), l'endoderme prélevé à ces stades ne fournit pas de foie. Les 5 cas aberrants trouvés dans cette série expérimentale seront expliqués par les recherches suivantes.

On peut conclure qu'aux stades du prolongement céphalique et du repli céphalique transverse, l'endoderme des aires présomptives du foie n'est pas induit. Il n'est pas capable, associé au mésenchyme hépatique, de se différencier en foie. Je l'appellerai pour cette raison *endoderme pré-hépatique*.

Entre ce stade précoce et celui de 5 somites cet endoderme subit une induction ; j'ai pensé que le mésoderme de l'aire cardiaque pouvait en

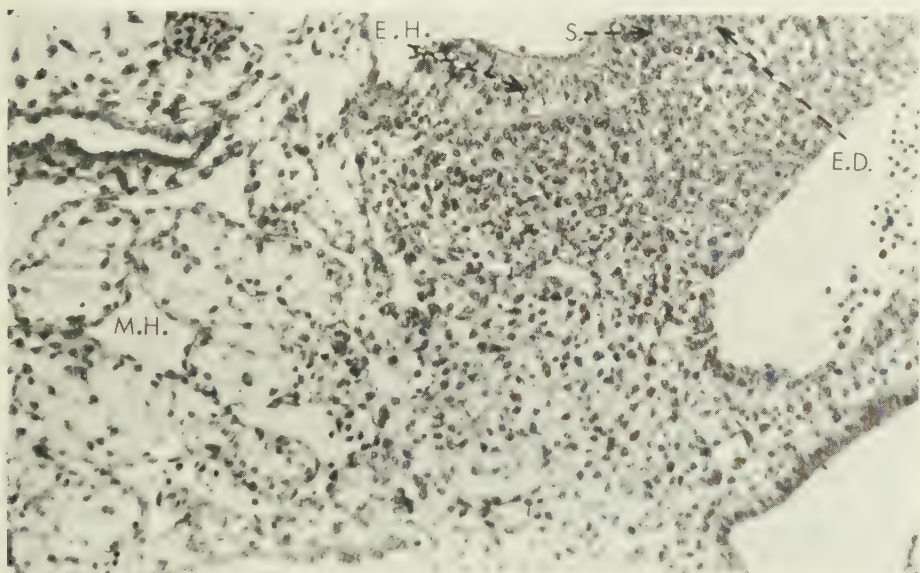


Fig. 62. — Résultat de l'expérience représentée sur la figure 61. A 5 jours d'incubation, l'embryon a été fixé. L'endoderme greffé (E. H.) se soude (niveau S.) à l'endoderme digestif de l'hôte (E. D.). Il n'y a pas d'histogenèse hépatique : le mésenchyme hépatique de l'hôte (M. H.) reste vide de cordons épithéliaux (Hémaroxyline-Eosine, $\times 220$).

être responsable. L'expérience consistant à implanter dans le mésenchyme hépatique l'endoderme pré-hépatique accompagné du mésoderme sous-jacent, c'est-à-dire celui de l'aire cardiaque, m'a permis de vérifier cette hypothèse.

B. — Action du mésoderme de l'aire cardiaque sur l'endoderme pré-hépatique.

Sur des blastoderms aux stades du prolongement céphalique et du repli céphalique transverse, les aires hépatiques sont prélevées comme dans la série expérimentale précédente. On fait agir, dans les mêmes

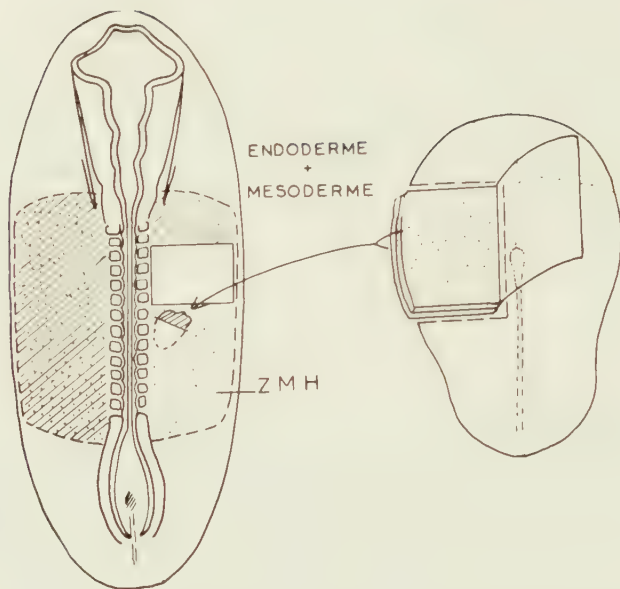


Fig. 63. — Association *in ovo* de l'endomésoderme de l'aire cardio-hépatique. Le schéma expérimental est le même que pour la figure 61, mais ici l'endoderme n'est pas isolé du mésenchyme adjacent.

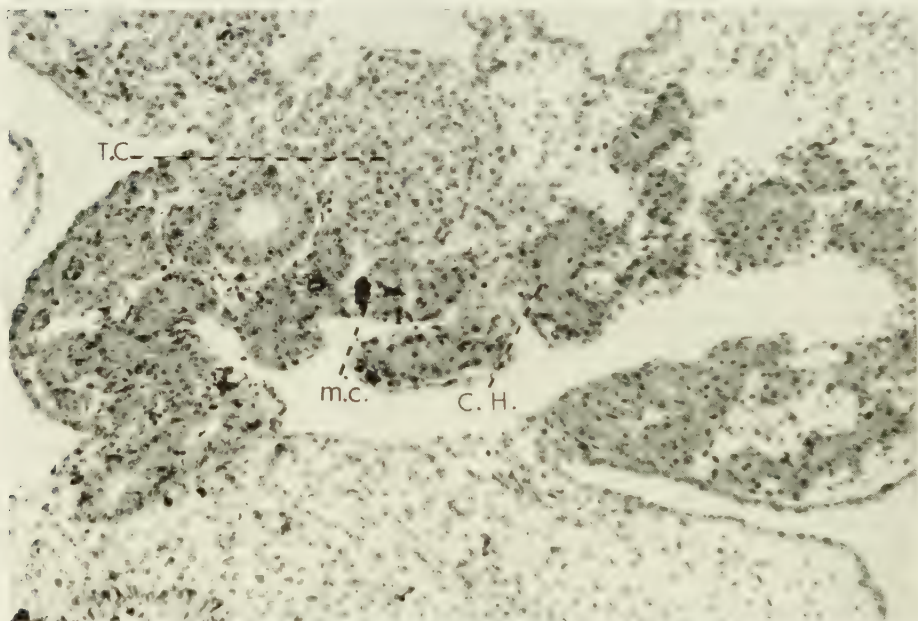


Fig. 64. — Résultat de l'expérience représentée figure 63. L'endoderme greffé a été induit par le mésoderme de l'aire cardiaque et fournit des cordons hépatiques (C. H.) qui colonisent le mésenchyme hépatique de l'hôte. Le mésoderme de l'aire cardiaque fournit des amas de tissu cardiaque (T. C.).

m. c. : Marques de charbon accompagnant le greffon (Hématoxyline-Éosine, $\times 180$).

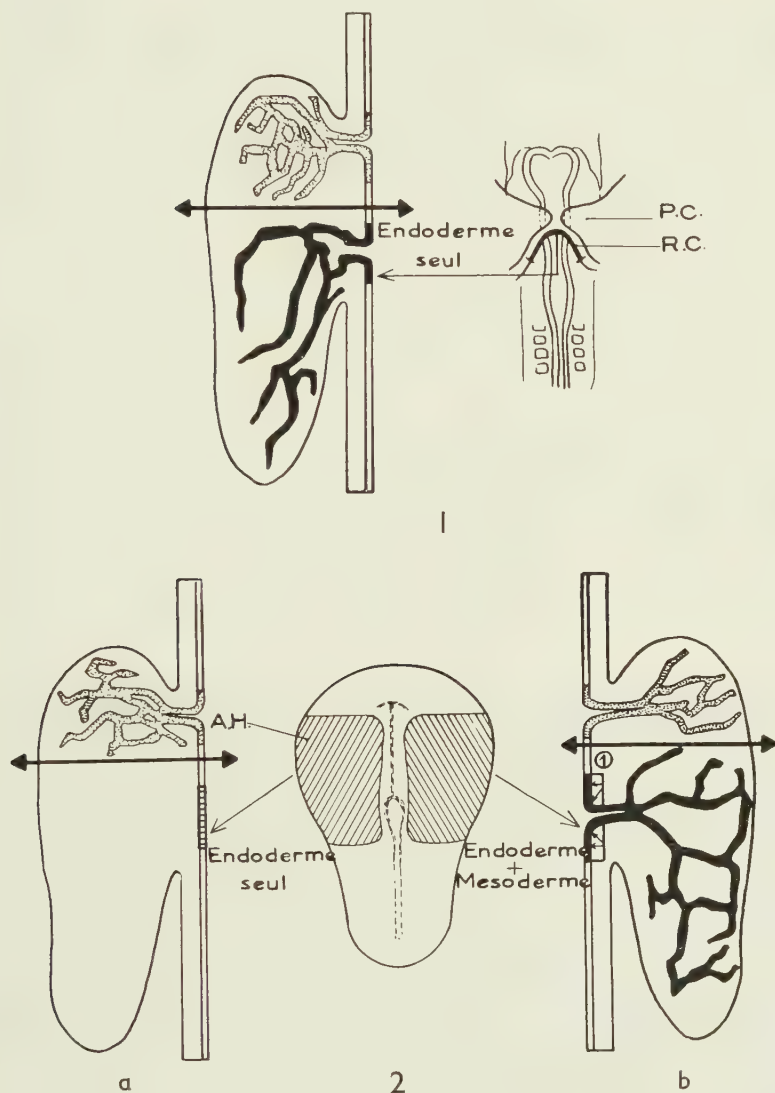


Fig. 65. — Schémas résumant les résultats obtenus en ce qui concerne l'induction primaire de l'endoderme hépatique.

1. — Au stade de 5 somites l'endoderme présomptif du foie est situé dans la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal. Isolé par action de la trypsine et associé *in ovo* au mésenchyme hépatique, il fournit des cordons de foie. P. C. : Primordia cardiaques. R. C. : Repli cardiaque. 2. — Aux stades du prolongement céphalique et du repli céphalique transverse, l'endoderme hépatique constitue deux aires latérales (A. H.) dans la région antérieure du blastoderme. *a*) Cet endoderme est greffé seul. Il ne se forme pas de cordons hépatiques dans le mésenchyme de l'hôte. L'endoderme n'est donc pas encore induit à ce stade ; *b*) Le greffon est constitué de l'endoderme et du mésoderme de l'aire hépatique (mésoderme pré-cardiaque). Il se forme alors du foie. Donc ce mésoderme induit l'endoderme hépatique présomptif. Les flèches (1) symbolisent ce premier stade de l'induction du foie.

conditions, la trypsine pendant 20 minutes environ pour décoller l'ectoderme. L'endomésoderme est ensuite associé *in ovo* au mésenchyme hépatique (fig. 63).

Dans 13 cas sur 15, l'endoderme greffé a fourni du foie dans le mésenchyme hépatique de l'hôte.

Dans les 2 cas négatifs le greffon, bien que présent, n'avait eu qu'un développement défectueux et présentait une importante nécrose.

La figure 64 montre la différenciation de l'endoderme greffé et celle du mésoderme qui a fourni un amas de tissu cardiaque.

Les résultats obtenus sont donc totalement différents lorsque l'endoderme pré-hépatique est greffé seul et lorsqu'il est associé au mésoderme de l'aire cardiaque. Ce n'est qu'en présence de ce dernier que l'endoderme peut fournir du foie.

Donc, une première action inductrice — *Induction primaire* — est mise en évidence par ces expériences. Elle est exercée par le mésoderme de l'aire cardiaque sur l'endoderme pré-hépatique, entre le stade du repli céphalique transverse et celui de 5 somites. C'est seulement lorsque cette induction primaire a eu lieu que l'endoderme peut réagir à l'influence morphogène du mésenchyme propre du foie et se différencier alors en cellules hépatiques.



Fig. 66. — Évolution dans le mésenchyme propre du foie de l'endoderme pré-hépatique associé à un très petit fragment du mésoderme inducteur provenant de l'aire cardiaque. L'endoderme a été induit et a fourni des cordons hépatiques (C. H.). Les quelques cellules mésodermiques présentes ont constitué un petit amas de tissu cardiaque (T. C.).

M. H. : Mésenchyme hépatique (Hématoxyline-Éosine, $\times 250$).

Ces résultats sont schématisés sur la figure 65.

Remarque. — Cette dernière série expérimentale permet d'expliquer les 5 cas positifs obtenus en greffant l'endoderme pré-hépatique seul dans le mésenchyme propre du foie. En effet dans 3 de ces 5 cas, à côté des cordons de foie fournis par l'endoderme, on trouve un petit amas de tissu cardiaque qui s'est développé dans le mésenchyme de l'hôte (fig. 66). Quelques cellules mésenchymateuses ont donc été entraînées avec l'endoderme au moment de la dissociation et ont suffi à induire ce dernier.

On sait que les territoires endodermiques qui sont latéraux lorsque l'embryon est disposé à plat sur le jaune s'unissent sur la ligne médio-ventrale au cours du développement. En ce qui concerne les ébauches hépatiques et cardiaques, ce phénomène est à peu près complètement réalisé aux stades de 5 à 6 somites. Je me suis demandé à quel moment de la migration de l'endoderme pré-hépatique et du mésoderme pré-cardiaque s'effectuait l'induction primaire de l'endoderme hépatique.

C. — Chronologie de l'induction de l'endoderme pré-hépatique par le mésoderme de l'aire cardiaque.

1° *La formation du repli cardiaque.*

Le premier stade de la formation de l'intestin antérieur est indiqué par un repli endodermique situé en avant du prolongement céphalique, dans une région du blastoderme que le feuillet mésodermique n'a pas encore atteinte. C'est le repli céphalique transverse qui devient de plus en plus profond et de moins en moins large dans le sens transversal. Ainsi se constitue l'intestin antérieur. Sa formation et sa croissance impliquent des mouvements des feuillets embryonnaires les uns par rapport aux autres ainsi que des mouvements relatifs des différentes parties d'un même feuillet. Ces mouvements ont été analysés par BELLAIRS (1953 *b*).

Le repli céphalique transverse est colonisé par les vésicules amniocardiaques et le mésoderme précardiaque qui migrent en direction crâniale et s'insinuent entre les deux couches du repli endodermique en effectuant un déplacement latéro-médian. Le repli cardiaque est alors constitué.

Ainsi, comme BORN l'a établi en 1889, les ébauches cardiaques bilatérales fusionnent sur la ligne médiane. Chez le Poulet, cette fusion s'effectue aux stades de 5 à 6 somites. Récemment, par la méthode cinématographique, DE HAAN (1963) a pu suivre le déplacement du mésoderme précardiaque sur des embryons de Poulet cultivés *in vitro*.

J'ai suivi la réunion dans le repli cardiaque des deux primordia endodermiques du foie.

*2^o Réunion sur la ligne médio-ventrale
des deux primordia endodermiques du foie.*

La méthode que j'ai utilisée a été celle des marques colorées déposées sur l'endoderme d'embryons cultivés *in vitro* sur la face dorsale selon la technique de WOLFF et SIMON (1955).

Deux séries expérimentales ont été réalisées :

a) Marquage aux stades présomitiques.

Six embryons de stades prolongement céphalique âgé et repli céphalique transverse ont été marqués et ont évolué suffisamment pour former en culture une dizaine de paires de somites. Je décrirai le cas d'un embryon marqué au stade du repli céphalique transverse. Des marques de charbon sont déposées sur l'endoderme de l'aire latérale hépatique droite comme l'indique la figure 67 *a*. Dix-huit à vingt heures après, l'embryon a atteint le stade de 9 somites et possède un cœur pulsatile. L'amas de grains de charbon s'est réparti en deux lots qui ont suivi des directions divergentes (fig. 67 *b*). Les uns ont été entraînés vers l'aire opaque tandis que les autres se sont localisés dans la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal.

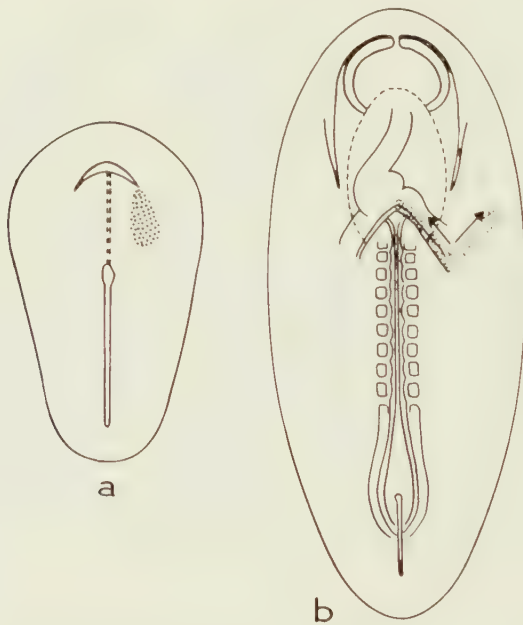


Fig. 67. — *a*) Marquage de l'endoderme pré-hépatique droit, au stade du repli céphalique transverse ; *b*) Au stade de 9 somites les marques se sont déplacées, les unes se sont dirigées vers l'aire opaque, les autres se sont localisées médio-ventralement dans le repli cardiaque.

b) *Marquage aux stades de 2 à 4 somites.*

Le déplacement des marques a été suivi sur 5 embryons. Voici, à titre d'exemple, l'évolution d'un embryon marqué au stade de 2 somites.

Les marques sont déposées latéralement du côté droit juste en arrière de la limite postérieure du repli endodermique. Le mésoderme précardiaque, qui a déjà commencé sa migration à ce stade, forme deux avancées en croissant dans le repli endodermique.

Dix-neuf heures après le moment où les marques ont été déposées, l'embryon a atteint le stade de 13 somites et possède un cœur pulsatile. Les marques sont groupées dans la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal.

Vingt heures après ce premier examen, l'embryon présente 21 somites. Les marques sont toujours en position médiane dans le bord endodermique du repli cardiaque.

Ces observations permettent de suivre l'incorporation au repli cardiaque des aires hépatiques latérales de l'endoderme et par conséquent la réunion sur la ligne médio-ventrale des deux primordia endodermiques du foie. Au cours de la fermeture de l'intestin antérieur, des régions latérales situées de plus en plus caudalement sont incorporées au repli cardiaque ; cependant, les marques qui affectent l'endoderme hépatique demeurent dans la partie médiane de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal. L'existence des mêmes cellules endodermiques dans le bord caudal du repli cardiaque au cours de la fermeture de l'intestin antérieur est donc bien visible dans ces expériences. Ceci confirme les résultats des expériences décrites dans la première partie de ce mémoire et qui m'ont permis de localiser les territoires endodermique et mésodermique de l'ébauche du foie.

J'ai ensuite cherché à déterminer à quel moment de la migration de l'endoderme hépatique et du mésoderme de l'aire cardiaque s'effectue l'induction mise en évidence par les expériences précédemment décrites.

3° *Les primordia endodermiques hépatiques sont-ils induits
avant ou après leur réunion
dans la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal ?*

Les expériences suivantes ont permis de répondre à cette question.

La partie antérieure de blastoderme de stades 1 à 4 somites est fragmentée en trois zones constituées par la région du pli endodermique d'une part et deux aires latérales d'autre part. Ces dernières ont pour limites le bord postérieur du pli en avant, le niveau du nœud de Hensen en arrière, l'aire opaque et le bord somitique latéralement (fig. 68).

Il est évident que par suite de la migration du mésoderme précardiaque et des mouvements morphogénétiques de l'endoderme, ces différents territoires n'ont pas exactement la même constitution aux stades de 1 et de 4 somites. Ainsi, au stade de 1 somite, le mésoderme commence à

s'insinuer dans le repli endodermique transversal et les primordia hépatiques sont encore bilatéraux. Au contraire, au stade de 4 somites, les primordia hépatiques et cardiaques sont dans une plus grande proportion incorporés au repli cardiaque.

A partir des fragments de blastoderme ainsi prélevés, j'ai isolé par action de la trypsine l'endoderme seul d'une part, l'endomésoderme d'autre part. Les potentialités histogénétiques de l'endoderme isolé ont été éprouvées par la même méthode que dans les expériences précédentes, c'est-à-dire en associant *in ovo* ce tissu et le mésenchyme hépatique.

L'endomésoderme des mêmes régions a été greffé également à titre de contrôle. Il m'a paru nécessaire, en effet, étant donné le déplacement des territoires embryonnaires pendant cette période du développement,

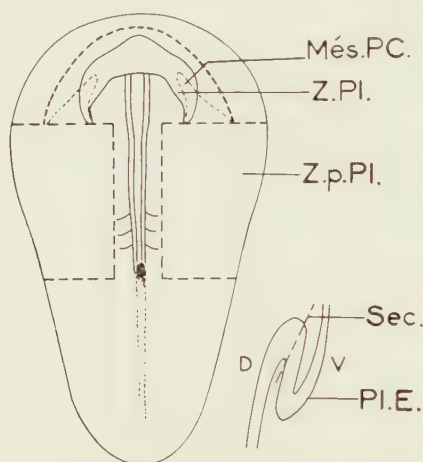


Fig. 68. — Embryon de 3 somites représenté en vue ventrale.
La région antérieure du blastoderme est divisée en trois zones :

- une zone comprenant le repli endodermique (Z. Pl.) dans lequel s'insinue le mésoderme pré-cardiaque (Més. P. C.) ;
- deux zones latérales postérieures au pli (Z. p. Pl.) et s'étendant jusqu'au nœud de Hensen. En bas et à gauche : coupe sagittale de la partie antérieure du blastoderme montrant le niveau de la section (Sec.) du pli endodermique (Pl. E.).

D. : Face dorsale ; V. : Face ventrale.

de vérifier que les régions étudiées contenaient bien les tissus inducteur et réacteur qui interviennent dans l'organogenèse hépatique.

Les séries expérimentales réalisées sont résumées dans le tableau XI. Étant donné leur homogénéité, les résultats obtenus aux différents stades ont été groupés.

On peut conclure que jusqu'au stade de 4 somites inclusivement, l'endoderme présomptif du foie ne peut accomplir d'histogenèse hépatique qu'à la condition d'être associé au mésoderme de l'aire cardiaque. L'induction primaire de l'endoderme hépatique n'a donc pas encore eu lieu à ce

TABLEAU XI

Potentialités histogénétiques hépatiques de l'endoderme et de l'endomésoderme de la région antérieure du blastoderme aux stades de 1 à 4 somites.

	Zone du pli endodermique			Zone latérale		
	Nombre de cas	Formation de tissu hépatique		Nombre de cas	Formation de tissu hépatique	
		+	—		+	—
Endoderme + mésoderme	10	9	1	12	12	0
Endoderme seul	11	1	10	13	2	11

stade. Elle s'effectue immédiatement après, entre les stades de 4 et de 5 somites.

J'ai ensuite cherché à préciser si, dès le stade de 5 somites, tout l'endoderme hépatique compétent avait subi l'induction primaire ou si au contraire, cette induction présente un caractère progressif.

4° Évolution de l'induction primaire de l'endoderme hépatique.

Les expériences de greffe du repli cardiaque précédemment réalisées au stade de 5 somites ont été répétées, mais en fragmentant cette fois ce

TABLEAU XII

Évolution de l'endoderme (A et B) et de l'endomésoderme (C) de différentes régions du repli cardiaque greffés dans le mésenchyme hépatique.

Greffon	Nombre de cas	Formation de travées hépatiques dans le mésenchyme	
		+	—
A	8	8	0
B	15	2	13
C	6	6	0

repli. Trois sortes de greffons ont été utilisés (fig. 69) : Endoderme isolé de la partie médiane du repli cardiaque (A). Endoderme isolé des régions latérales du repli cardiaque (B). Endomésoderme de ces régions latérales (C).

Ces différents greffons ont été associés *in ovo* au mésenchyme hépatique et leurs capacités histogénétiques ont ainsi été étudiées.

Le tableau XII résume les résultats obtenus.

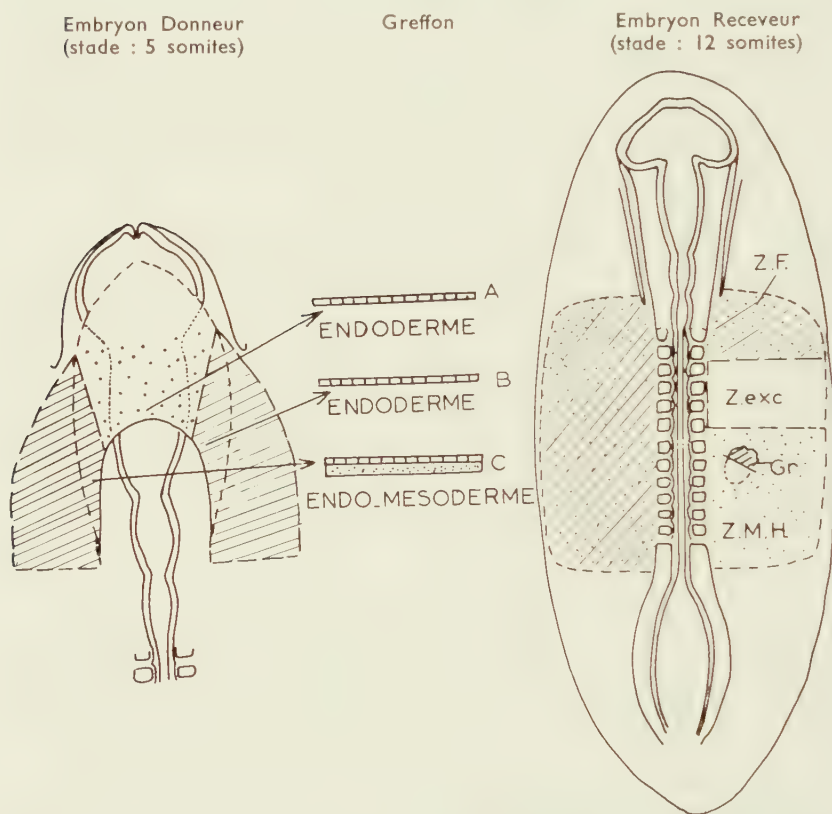


Fig. 69. — Le repli cardiaque d'un embryon de 5 somites (embryon donneur) est divisé en une région médiane et deux régions latérales. L'endoderme de la région médiane (greffon A), l'endoderme (greffon B) et l'endomésoderme (greffon C) des régions latérales, sont greffés dans le territoire présomptif du mésenchyme hépatique d'un embryon hôte.

Z. exc. : zone excisée ; Z. F. : zone où le foie se différencie ; Z. M. H. : zone présomptive du mésenchyme hépatique ; Gr. : greffon.

Seul l'endoderme de la région médiane du repli cardiaque est donc induit au stade de 5 somites. On peut conclure que l'induction primaire de l'endoderme hépatique par le mésoderme de l'aire cardiaque débute dans la partie médiane et s'étend ensuite aux régions latérales lorsque ces dernières s'incorporent progressivement à l'intestin antérieur.

D. — Limites de l'endoderme capable de former du foie.

La région embryonnaire située en arrière du fragment B (fig. 69) au stade de 5 à 6 somites ne fournit jamais de foie lorsqu'elle est isolée en greffe cœlomique (Chapitre premier, 2^e partie). Je me suis demandé si l'endoderme de cette région associé expérimentalement au mésenchyme de l'aire cardiaque, serait apte à fournir des cellules hépatiques.

J'ai réalisé une série expérimentale pour résoudre cette question. J'ai isolé *in ovo* par un obstacle la région postérieure au repli cardiaque chez un embryon de 5 somites. Le mésoderme de l'aire cardiaque prélevé

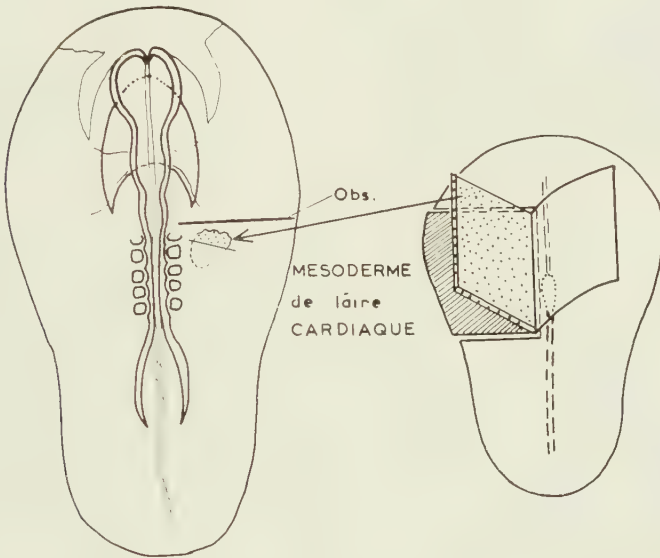


Fig. 70. — Association du mésoderme inducteur du foie avec l'endoderme latéral, postérieur au repli cardiaque, d'un embryon de 5 somites : le mésoderme de l'aire cardiaque prélevé au stade du prolongement céphalique est greffé dans l'aire latérale d'un embryon de 5 somites. Un obstacle transversal (Obs.) empêche la descente du repli cardiaque de l'hôte et la formation normale du foie du côté où a été faite la greffe.

sur des blastodermes aux stades du prolongement céphalique, à celui de 4 somites, a été greffé en arrière de cet obstacle (fig. 70). Ainsi se trouvent réunis le mésoderme inducteur, l'endoderme de la région postérieure de l'aire hépatique présomptive et le mésenchyme hépatique qui permet à l'endoderme compétent d'exprimer ses potentialités histogénétiques.

Sur 40 embryons ainsi greffés, 12 ont survécu jusqu'au 5^e jour de l'incubation. Dans les 12 cas, le mésenchyme est resté vide de cordons hépatiques. Le mésoderme greffé s'est différencié en tissu cardiaque mais l'endoderme de la région correspondante n'a pas été induit et ne s'est pas différencié en cellules hépatiques. L'endoderme situé en arrière du repli cardiaque

au stade de 5 somites n'est donc pas apte à subir l'induction hépatique. On peut résumer l'ensemble de ces données dans le schéma représenté figure 71.

Il restait alors à établir quelle est dans le développement normal la destinée du mésoderme inducteur du foie. Est-il uniquement constitué par le mésenchyme précardiaque ou participe-t-il à la formation du mésen-

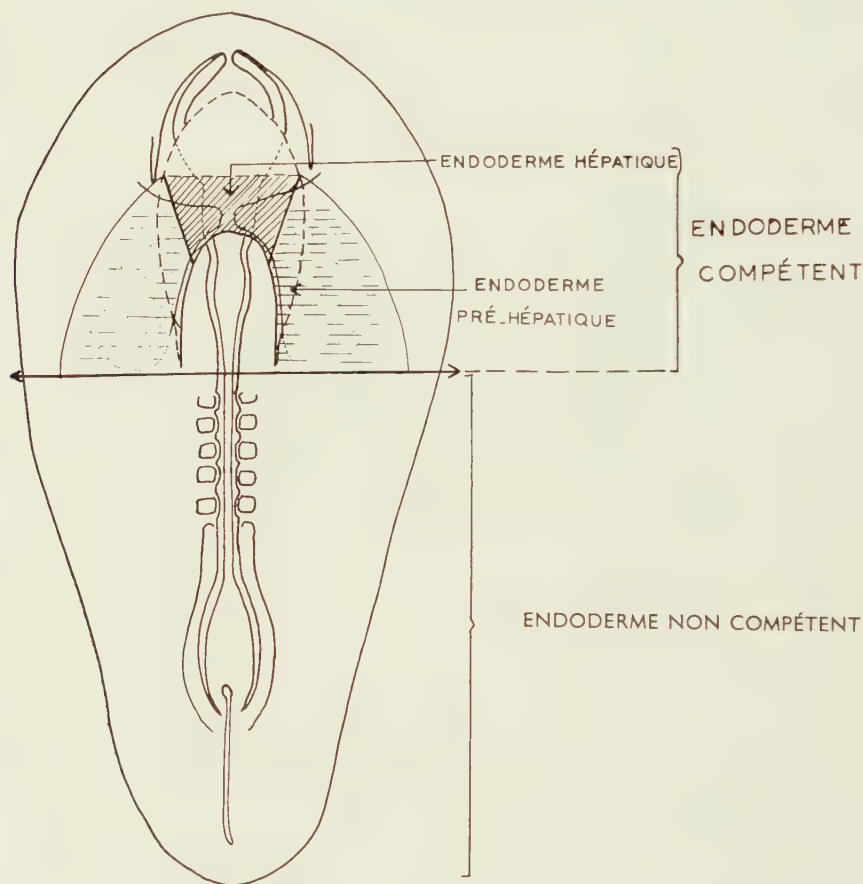


Fig. 71. — *Limites de l'endoderme hépatique compétent au stade de 5 somites.* L'endoderme hépatique compétent est situé à ce stade dans la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal. Il est déjà induit dans la région médiane, mais non encore dans les régions latérales où il est en contact avec du mésoderme précardiaque (en pointillé). En arrière du repli cardiaque, l'endoderme associé au mésoderme inducteur ne fournit pas de foie, il n'est donc pas compétent.

chyme hépatique ? Cette deuxième hypothèse est suggérée par la proximité du cœur et de la jeune ébauche du foie au stade où débute l'organogenèse hépatique.

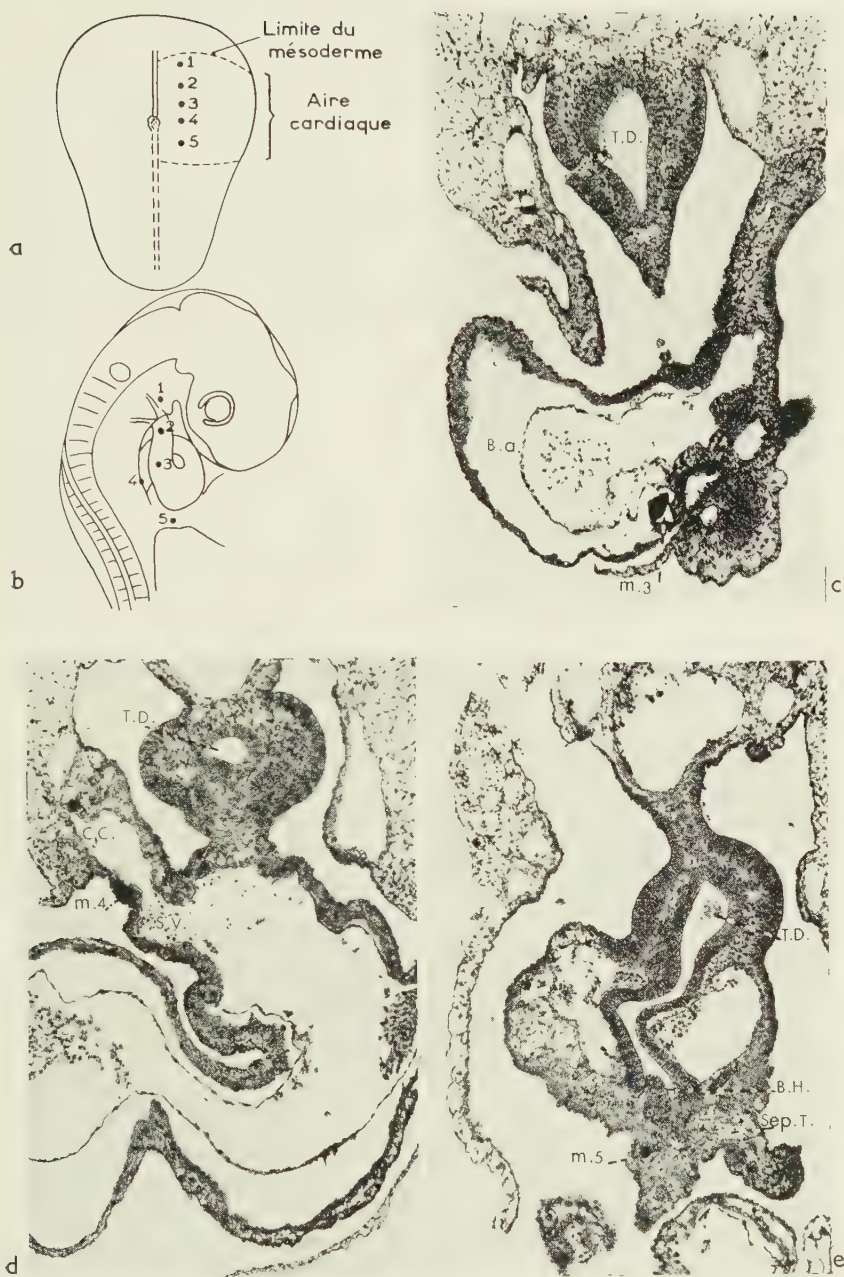


Fig. 72. — *a*) Marquage du mésoderme de l'aire cardiaque au stade du prolongement céphalique (1, 2, 3, 4 et 5 : marques de charbon) ; *b*) Les marques se retrouvent au stade de 25 somites dans le cœur et la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal ; *c* à *e*) Coupes histologiques à différents niveaux (Hématoxyline-Eosine) ; *c*) Marque 3 (m. 3) dans le bulbe artériel (B. a.) ($\times 75$) ; *d*) Marque 4 (m. 4) dans le canal de Cuvier (C. C.) ($\times 75$) ; *e*) Marque 5 (m. 5) dans le mésenchyme hépatique du septum transversum (Sep. T.) en avant du bourgeon endodermique hépatique (B. H.) ($\times 75$).

T. D. : Tube digestif ; S. V. : Sinus veineux.

E. — Destinée du mésoderme de l'aire cardiaque.

L'évolution du mésoderme de l'aire cardiaque a été suivie au moyen de très fines marques de charbon déposées dans le feuillet mésodermique au stade du prolongement céphalique et du repli céphalique transverse. J'ai placé les marques *in ovo* dans le mésoderme en transperçant l'ectoderme à l'aide d'une aiguille de verre et en évitant d'atteindre l'endoderme. Le déplacement des marques est observé au cours du développement puis, au stade de 21 à 30 somites, l'embryon est prélevé et étudié.

La description d'un cas précis est donnée à titre d'exemple. Cinq marques ont été déposées selon une ligne parallèle à l'axe embryonnaire, comme le montre la figure 72 *a*. Au moment de la fixation de l'embryon elles étaient situées d'une part dans la paroi cardiaque et d'autre part dans laèvre antérieure de l'ombilic intestinal (fig. 72 *b*). Les coupes histologiques reproduites sur les figures 72 *c*, *d*, *e* montrent la localisation précise des marques. On remarque que l'implantation a été strictement mésodermique. Les trois premières marques sont situées dans la paroi du cœur, la quatrième dans celle du canal de Cuvier et la dernière affecte les villosités mésodermiques du *septum transversum*, juste en avant des bourgeons hépatiques.

D'autres observations ont confirmé celle qui vient d'être décrite. On peut en conclure que le mésoderme de l'aire cardiaque ne forme pas seulement le tissu cardiaque mais intervient aussi dans l'édification du mésenchyme hépatique.

Fig. 73. — Évolution des catégories cellulaires impliquées dans la différenciation du foie entre le stade du prolongement céphalique et celui de 15 somites.

1. Au stade du prolongement céphalique la ségrégation des potentialités histogénétiques n'est pas encore réalisée dans le mésoderme des aires cardiohépatiques. Les futures cellules cardiaques (figurées en gros points) sont mêlées aux futures cellules du mésenchyme hépatique (en pointillé fin). L'endoderme pré-hépatique (en traits interrompus) n'est pas encore déterminé ; 2. Au stade de 2 à 3 somites, le mésoderme commence à coloniser le repli endodermique ventral. L'endoderme pré-hépatique est encore indéterminé ; 3. Au stade de 5 somites, le mésoderme pré-cardiaque s'est séparé du mésenchyme hépatique présomptif. Les deux primordia cardiaques sont sur le point de se réunir sur la ligne médio-ventrale. Le mésenchyme hépatique présomptif a une aire de répartition plus étendue vers l'arrière que le mésenchyme précardiaque. L'endoderme présomptif du foie est induit dans la région médiane du repli cardiaque (en traits continus) mais il est encore indéterminé latéralement ; 4. Au stade de 15 somites, tout le mésoderme précardiaque est incorporé au cœur ; tout l'endoderme hépatique compétent est induit et se trouve dans laèvre antérieure de l'ombilic intestinal. Le mésenchyme hépatique constitue dans le repli cardiaque l'ébauche du *septum transversum*, tandis que latéralement il n'existe encore qu'à l'état présomptif sous forme de deux bandes latérales s'étendant jusqu'au niveau du 15^e somite. Il s'individualisera le long des veines omphalo-mésentérique et ombilicale lors du recul de laèvre antérieure de l'ombilic intestinal et constituera l'ébauche des lobes droit et gauche du foie.

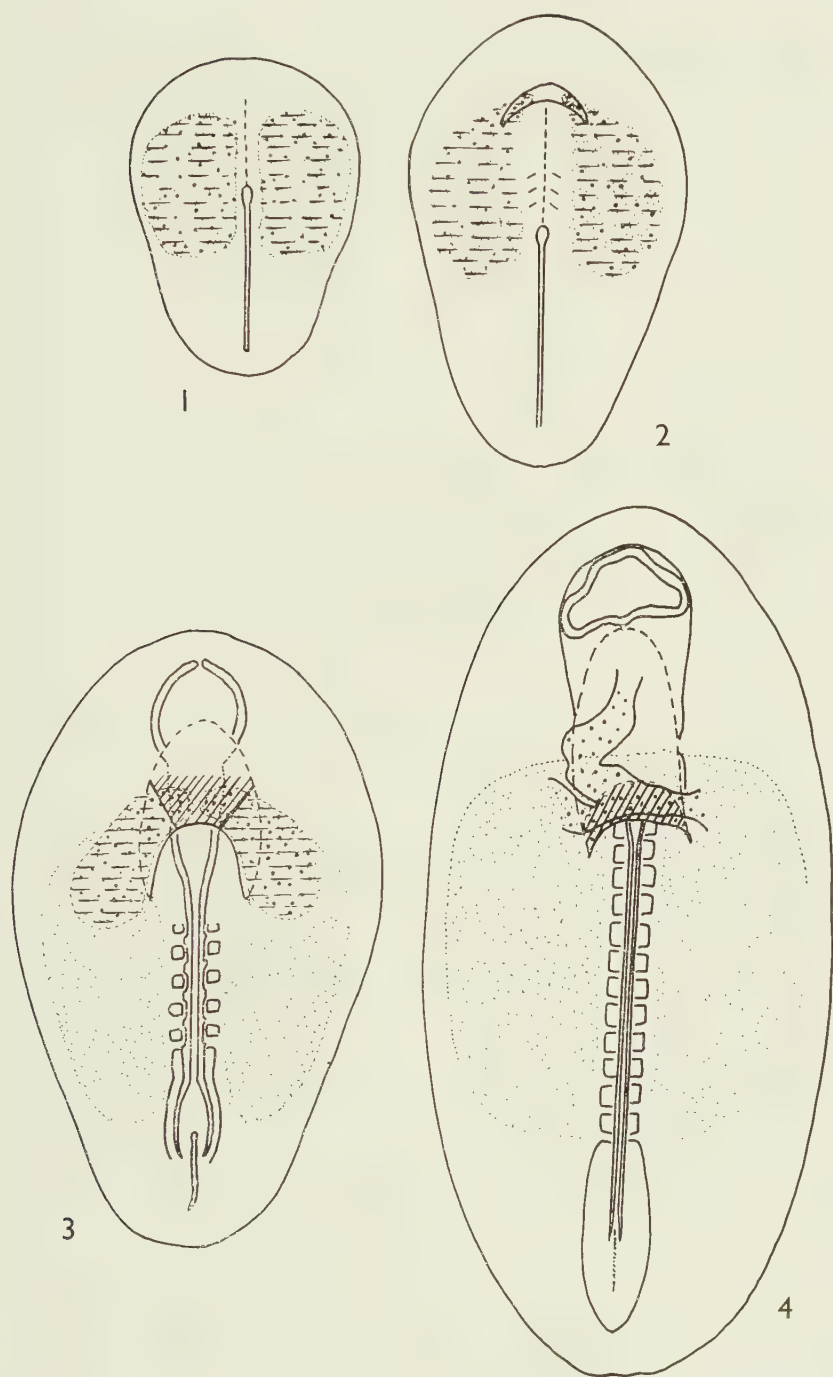


Fig. 73.

Ce résultat permet d'ailleurs d'expliquer que les auteurs qui ont greffé des fragments de blastodermes jeunes dans la membrane chorio-allantoïdienne ont obtenu du foie dans un certain nombre de cas. En effet, les greffons étaient constitués de l'endoderme compétent d'une part et d'autre part du mésenchyme qui assure l'induction primaire et qui fournit, au moins en partie, le mésenchyme propre du foie.

CONCLUSIONS

Dans le développement du foie interviennent deux inductions successives.

La première s'effectue au stade de 5 somites environ. Le mésoderme de l'aire cardiaque en est responsable. Cette *induction primaire* s'exerce sur les primordia hépatiques endodermiques lorsqu'ils se réunissent sur la ligne médio-ventrale au niveau de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal. L'induction primaire est progressive, elle affecte d'abord l'endoderme médian du repli cardiaque, puis l'endoderme qui s'intègre au repli par suite du recul de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal.

L'endoderme hépatique compétent est limité à celui du repli cardiaque au stade de 5 somites.

Le mésoderme de l'aire cardiaque fournit une partie du mésenchyme hépatique. Ce dernier exerce sur l'endoderme hépatique préalablement induit une action morphogène que l'on peut qualifier d'*induction secondaire*. Sous cette deuxième influence les cellules endodermiques se différencient en cellules hépatiques.

L'évolution des différentes catégories cellulaires impliquées dans l'organogenèse hépatique est résumée dans la figure 73.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

La formation du tube digestif est généralement considérée comme étant un processus embryologique simple. Dès 1768, C. F. WOLFF a suivi sur le jeune blastoderme du Poulet les étapes successives de la transformation de la plaque endodermique en une gouttière qui, par soudure de ses bords, se transforme progressivement en un tube. C'est à partir de ces observations que C. F. WOLFF tira les arguments fondamentaux en faveur de la théorie de l'épigenèse.

Les résultats décrits dans ce travail permettent de préciser certains aspects de l'organogenèse digestive. Ils montrent qu'au cours de la formation du tube digestif, il intervient des phénomènes plus complexes que la simple fermeture d'une gouttière en un tube.

Aux stades précoces du développement la répartition des aires présomptives le long de l'axe crânio-caudal ne correspond que de façon très approxi-

mative à la succession des segments définitifs du tube digestif. D'autre part, la formation de l'intestin antérieur (pharynx embryonnaire) montre que des mouvements morphogénétiques complexes interviennent dans cette étape de l'organogenèse.

Chez l'embryon de Poulet de 2 à 3 jours d'incubation, le territoire présomptif de chaque segment du tube digestif est constitué d'une partie médio-dorsale et de deux aires latérales situées de part et d'autre de l'axe somitique. Les territoires médio-dorsaux sont échelonnés dès ce stade conformément à l'ordre définitif des organes dans le tube digestif. Par contre, les territoires latéraux sont situés plus crânialement que les territoires dorsaux correspondants et sont mal délimités; la ségrégation des potentialités organogénétiques ne s'est pas réalisée à ce stade dans les aires endomésodermiques latérales.

La mise en place définitive des aires présomptives digestives résulte d'une série de mouvements morphogénétiques provenant des croissances disharmoniques des régions médio-dorsales et latéro-ventrales du corps. Dans un premier stade, la croissance de la région dorsale est plus rapide que celle des régions latérales (HUBERT, en 1957, a attribué à cette disharmonie de croissance la responsabilité de la courbure générale du corps au cours des premiers jours du développement). Le repli cardiaque constitue alors un point fixe, comme l'avait déjà pensé LUDWIG (1919) et par rapport à ce point fixe la partie antérieure de l'embryon s'accroît vers l'avant. Ultérieurement la croissance de la partie ventrale du corps devient prépondérante de telle sorte que le matériel embryonnaire de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal se trouve être reporté de plus en plus caudalement. Au cours de ce déplacement apparent en direction crânio-caudale, les régions latérales de l'endomésoderme s'incorporent successivement au matériel médian. C'est donc le matériel embryonnaire de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal qui assure la fermeture ventrale de l'intestin pré-ombilical. Ceci explique que lorsque la descente du repli cardiaque se trouve être empêchée, ce qui est le cas chez les Omphalocéphales ou par suite de différentes interventions expérimentales, la plaque digestive ne se transforme pas en un tube.

Par ailleurs, il a été possible de montrer que les territoires endomésodermiques sont capables de pallier un certain manque de matériel embryonnaire comme c'est le cas pour les blastèmes de nombreux autres organes. Deux exemples ont pu en être donnés. Ils relèvent d'ailleurs de mécanismes différents. Il s'agit d'une part de la régulation de l'estomac et d'autre part de celle d'une partie du foie.

La destruction par les rayons X du territoire présomptif à partir duquel l'estomac se forme n'empêche pas la constitution de cet organe. Un estomac se forme par régulation à partir du territoire embryonnaire situé en arrière de la région détruite. Cet exemple entre dans le cadre général de la régulation des déficiences aux jeunes stades du développement embryonnaire. Le territoire assurant la régulation n'intervient pas normalement dans l'organogenèse de l'estomac, mais possède cependant des potentialités

organogénétiques lui permettant d'édifier cet organe. Il ne peut exprimer ces potentialités qu'à la condition que le territoire normal de l'estomac soit détruit. Le mécanisme qui empêche l'expression de ces potentialités dans le développement normal demeure mystérieux. On peut invoquer un processus d'inhibition qui, au cours de l'organogenèse, s'exerce de la partie antérieure en voie de différenciation sur la partie postérieure. On a tendance à considérer actuellement qu'au cours du développement embryonnaire de tels phénomènes d'inhibition jouent un rôle important dans la différenciation (WEISS, 1947 ; ROSE, 1952). On a pu en mettre en évidence au cours des processus de régénération. Chez les Planaires d'eau douce, on a montré (LENDER, 1960 ; WOLFF, 1962), que le cerveau sécrète des substances inhibitrices qui empêchent la formation d'autres ganglions cérébroïdes dans la tête en voie de régénération. De même, la régénération du pharynx est inhibée par des extraits de région pharyngienne (WOLFF, LENDER et ZILLER-SENGEL, 1964).

Dans le cas de l'organogenèse hépatique, on constate qu'après la destruction par les rayons X d'une partie du territoire mésodermique présomptif du foie au stade de 9 à 15 somites, cet organe est de taille réduite lorsque l'embryon est examiné à 6 jours d'incubation. Par conséquent, la déficience ainsi provoquée n'est pas suivie de régulation aux stades de la mise en place des ébauches et de la différenciation du foie.

Par contre, au cours de la deuxième moitié de la période d'incubation, les lobes hépatiques subissent une hypertrophie compensatrice qui tend à réduire la diminution de volume du foie produite par l'intervention. Ce processus est comparable à celui qui s'observe après ablation d'une partie du foie chez l'animal adulte. Il me paraît intéressant de constater que l'hypertrophie compensatrice du foie ne peut se produire dès le début de la différenciation de cet organe mais seulement à partir d'un stade avancé du développement embryonnaire se situant vers la moitié de la période d'incubation. Le caractère tardif de l'hypertrophie compensatrice du foie éloigne ce phénomène de la régulation de l'estomac qui, au contraire, se produit à un stade très précoce à partir d'un matériel embryonnaire qui est alors dévié de sa différenciation normale. L'édification d'un organe proche de la normale après la destruction totale ou partielle de son territoire présomptif peut donc être obtenue par des mécanismes embryologiques totalement différents.

La seconde partie de mon travail concerne l'organogenèse hépatique. Peu de travaux ont été consacrés à l'étude expérimentale de l'organogenèse du foie qui a par ailleurs fait l'objet d'études descriptives précises. Ceci est dû au fait que dans le tissu hépatique en voie de différenciation les auteurs ont envisagé essentiellement le matériel endodermique formant les cordons épithéliaux. Certains auteurs ont même totalement négligé le mésenchyme dans lequel se développent les cordons épithéliaux et qui est visible tout au début de l'organogenèse hépatique.

La localisation des aires hépatiques chez l'embryon de 9 à 15 somites d'une part et l'utilisation des obstacles mécaniques pour empêcher le

recul du repli cardiaque d'autre part, m'ont permis d'aborder l'étude de l'organogenèse hépatique sur le plan expérimental.

Si l'aire hépatique présomptive possède des potentialités histogénétiques uniformément réparties aux stades présomitiques, une ségrégation s'effectue ensuite. L'endoderme hépatique présomptif se localise dans le repli cardiaque tandis que du mésoderme situé non seulement dans le repli cardiaque, mais également dans deux zones postérieures latérales, environ jusqu'au niveau du 15^e somite, participe à la formation du foie. Lorsque des obstacles empêchent le recul du repli cardiaque, le mésenchyme hépatique situé en arrière se développe sans être envahi par les cordons épithéliaux. Cet artifice expérimental rapproche le cas du foie de celui des organes chez lesquels les composantes épithéliale et mésenchymateuse restent distinctes pendant les premiers stades de la différenciation. J'ai pu ainsi étudier les relations épithélio-mésenchymales intervenant au cours de l'organogenèse hépatique. D'autre part, lorsque l'organogenèse hépatique débute (au stade de 21 somites), l'endoderme présomptif du foie est déjà déterminé. J'ai cherché à préciser les facteurs responsables de cette détermination et le stade auquel elle se produit. Les résultats permettent, en liaison avec les données déjà établies par d'autres auteurs, de décrire l'organogenèse du foie non seulement d'un point de vue descriptif, mais également en indiquant les facteurs responsables de la différenciation à certains stades du développement.

L'aire présomptive du foie coïncide avec celle du cœur dans le blastoderme non incubé et aux stades présomitiques (HUNT, 1931 *a*, 1932 ; BUTLER, 1935 ; WILLIER et RAWLES, 1935 ; RAWLES, 1936). A partir du stade du prolongement céphalique, les potentialités hépatiques et cardiaques sont concentrées dans deux aires latérales localisées le long du prolongement céphalique et du tiers antérieur de la ligne primitive. Jusqu'au stade de 5 somites l'endoderme de l'aire hépatique est indifférent : associé au mésenchyme hépatique (ce que différents types d'expériences effectuées soit *in ovo*, soit *in vitro* permettent de réaliser) il ne se différencie pas en cordons épithéliaux formés d'hépatocytes. J'appelle cet endoderme indéterminé l'endoderme *pré-hépatique*. Au stade de 5 somites le mésoderme de l'aire cardiaque exerce une action inductrice sur l'endoderme pré-hépatique. Il semble que cette induction est spécifique : dans les expériences réalisées jusqu'ici, seul le mésenchyme de l'aire cardiaque peut l'exercer, comme seul l'endoderme pré-hépatique peut la recevoir. Il ne s'agit d'ailleurs que d'une étape, nécessaire mais non suffisante, de la différenciation du foie. En effet l'endoderme hépatique induit par le mésoderme de l'aire cardiaque est incapable de s'autodifférencier en cordons hépatiques lorsqu'il se développe isolément. Il doit être associé à un mésenchyme particulier pour pouvoir exprimer ses potentialités hépatogènes.

A l'induction de l'endoderme hépatique par le mésoderme de l'aire cardiaque (*induction primaire*) succède donc une *induction secondaire* qui, dans le développement normal, est assurée par l'ensemble du mésenchyme

hépatique dans lequel vont proliférer les cordons épithéliaux du foie. Cette induction secondaire n'est pas strictement spécifique en ce qui concerne le mésenchyme qui la produit. Différents mésenchymes peuvent, à des degrés divers, exercer une action morphogène sur l'endoderme hépatique ayant subi l'induction primaire. Ils possèdent d'ailleurs une certaine parenté embryologique avec le mésenchyme propre du foie puisqu'ils sont tous d'origine mésentérique ou péritonéale. L'induction secondaire a un double effet : les cellules de l'endoderme hépatique se différencient alors en hépatocytes et d'autre part se multiplient activement.

Les deux processus inducteurs intervenant dans l'organogenèse du foie appellent un certain nombre de remarques.

Tout d'abord la question se pose de savoir si l'induction secondaire est de nature différente de l'induction primaire ou s'il s'agit de la prolongation du même phénomène. Dans la deuxième hypothèse, l'induction hépatique serait un exemple d'induction s'étalant sur un temps très long, depuis le stade de 5 somites jusqu'à la constitution du foie. Il convient de remarquer à cet égard que le mésoderme de l'aire cardiaque, qui est responsable de l'induction primaire du foie, est à l'origine du mésenchyme hépatique responsable de l'induction secondaire. Le tissu inducteur de l'endoderme du foie est donc le même mésenchyme dont les effets inducteurs se manifestent à deux stades différents de l'organogenèse.

L'induction secondaire se traduit par une succession de phénomènes morphologiques qui débutent avec la formation du premier diverticule hépatique et se poursuivent au cours de la colonisation du mésenchyme par les travées épithéliales dont les cellules se différencient en hépatocytes.

Avant la formation des travées épithéliales, certains enzymes comme les phosphatases acides, d'abord abondants dans le mésenchyme du *septum transversum* se concentrent ensuite dans l'épithélium (CATAYÉE, 1962). L'induction semble donc être accompagnée de phénomènes de transferts d'enzymes du tissu inducteur au tissu réacteur.

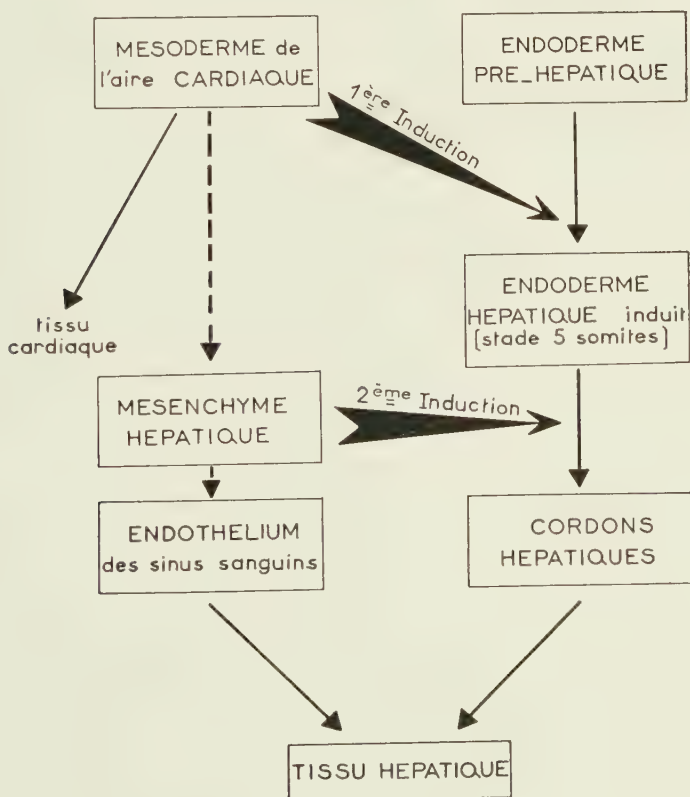
La différenciation de l'endoderme hépatique dans divers mésenchymes mésentériques et péritonéaux montre que les substances chimiques responsables de l'induction secondaire du foie sont présentes dans ces mésenchymes au moins pendant une certaine période du développement.

Les données obtenues concernant l'induction secondaire sont à rapprocher des résultats de DAMERON (1961-1962) dans le cas de la différenciation de l'épithélium pulmonaire et de ceux de GOLOSOW et GROBSTEIN (1962) dans le cas du pancréas. L'épithélium de l'ébauche du pancréas de souris de 11 jours de gestation peut se différencier lorsqu'il est associé à différents mésenchymes hétérologues. L'action morphogène du mésenchyme s'exerce par l'intermédiaire d'une substance chimique capable de traverser certains filtres. Récemment GROBSTEIN (1964) a pu obtenir la différenciation de l'endoderme pancréatique en l'absence de mésenchyme, lorsque cet endoderme est cultivé sur un milieu très riche en extrait embryonnaire. L'induction de l'épithélium pancréatique présente des caractères comparables à ce que j'ai appelé l'induction secondaire

dans le cas du foie et s'exerce sur un épithélium qui semble être déjà déterminé.

L'induction qui se produit au stade de l'organogenèse est la deuxième phase d'un processus commencé plus tôt. C'est la phase la moins spécifique en ce sens qu'elle peut se dérouler plus ou moins normalement dans un mésenchyme hétérologue. La spécificité de la différenciation est due à l'épithélium et dépend donc de la première induction.

Un autre problème se pose dans le cas du foie, c'est celui de l'influence exercée sur l'évolution du mésenchyme hépatique par la pénétration des cordons épithéliaux. Ce problème rejoint celui de l'origine des sinusoides sanguins du foie. Les résultats que j'ai obtenus apportent une contribution à cette question. En effet, il est possible de faire développer les cordons épithéliaux dans un mésenchyme hépatique préalablement bien formé. Il suffit pour cela de greffer l'endoderme hépatique dans l'aire mésodermique en arrière d'un obstacle transversal. L'analyse de l'influence exercée sur le mésenchyme par la prolifération des cordons épithéliaux s'en trouve facilitée. On observe dans ces conditions que dans le mésenchyme encore vide de cordons épithéliaux les travées cellulaires sont composées de cellules anastomosées qui, au niveau des sinusoides, constituent l'endo-



thélium. Lorsque ces travées sont envahies par les cordons épithéliaux, leurs cellules sont refoulées à la périphérie et fortement étirées. Il est vraisemblable que toutes les cellules mésenchymateuses sont ainsi transformées en cellules endothéliales des sinusoides sanguins. Cette transformation est bien due à l'action des cordons épithéliaux car, lorsque le mésenchyme hépatique évolue isolément, ses cellules, loin de s'étirer, deviennent plus riches en cytoplasme et la structure du tissu devient plus compacte. Ces cellules endothéliales, capables de subir des transformations diverses (en cellules de Küpffer (POPPER et SCHAEFER, 1957) ou en cellules hématopoïétiques (SORENSEN, 1960)), constituent l'un des deux éléments du tissu hépatique.

Les différentes étapes de la différenciation du foie sont résumées sur le tableau précédent.

RÉSUMÉ

L'organogenèse du tube digestif et celle du foie ont été étudiées chez l'embryon de Poulet.

1° La localisation des territoires présomptifs des organes digestifs chez les embryons de 9 à 25 somites a montré que les ébauches des différents segments du tube digestif sont constituées d'une aire medio-dorsale et de deux aires latéro-ventrales. Dès ce stade, les territoires médio-dorsaux sont échelonnés le long de l'axe embryonnaire selon l'ordre définitif des organes dans le tube digestif. Les territoires latéraux ont une position crâniale par rapport aux territoires dorsaux correspondants. Ainsi, à un même niveau transversal, on trouve dorsalement l'ébauche de l'estomac et, latéralement, des éléments qui entreront dans la constitution de l'anse duodénale et de l'anse grêle (fig. 9). Dans les aires latérales, les territoires correspondant aux différents organes sont mal délimités. La ségrégation des potentialités organogénétiques ne s'est pas achevée à ce stade dans la splanchnopleure.

2° Des mouvements morphogénétiques assurent la mise en place définitive des territoires présomptifs. Ils ont été étudiés en ce qui concerne l'intestin pré-ombilical.

- L'endomésoderme dorsal se déplace progressivement vers l'arrière par rapport à l'ectomésoderme (fig. 10).

- L'endomésoderme latéral (splanchnopleure) se déplace lui-même vers l'arrière par rapport à l'endomésoderme dorsal. Il est entraîné dans ce glissement par le recul de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal.

Cette formation comprend le même matériel embryonnaire, depuis le stade de 5 somites jusqu'à celui où débute l'organogenèse hépatique. Ce matériel entraîne au cours de son déplacement vers l'arrière les parties latérales de l'endomésoderme qui sont ainsi progressivement incorporées à la gouttière digestive. Cette gouttière se transforme de cette façon en un tube (fig. 11).

3° Des obstacles transversaux (fragments de membrane coquillière ou excision de territoire embryonnaire) peuvent empêcher le recul du repli cardiaque et par conséquent la transformation de la plaque digestive en un tube (fig. 12 et 13). Si l'intervention est pratiquée à un niveau suffisamment crânial, elle peut avoir deux autres conséquences :

— L'ébauche épithéliale des poumons ne peut entrer en contact avec le mésenchyme pulmonaire. Celui-ci, qui est constitué par deux ailes du mésentère dorsal, reste vide.

— Dans la partie du territoire présomptif du foie située en arrière des obstacles, il ne se forme pas de tissu hépatique glandulaire.

4° Des phénomènes de régulation peuvent intervenir après la destruction de certains territoires présomptifs au stade de 9 à 15 somites. Si le territoire de l'estomac, localisé entre le niveau du 2^e et celui du 8^e somite, est détruit par les rayons X, l'endomésoderme situé en arrière de la zone irradiée est capable de fournir un estomac. Ceci est un exemple de régulation des déficiences. La limite postérieure du territoire capable d'assurer cette régulation se situe approximativement au niveau du 15^e somite.

5° Au stade de 9 à 15 somites, les territoires hépatiques présomptifs occupent deux aires latérales qui s'étendent en arrière jusqu'au niveau du 15^e somite et qui se réunissent en avant dans le repli cardiaque. Ces territoires hépatiques présomptifs comprennent deux composantes distinctes. L'une, endodermique, donnera les travées épithéliales glandulaires ; elle est localisée dans la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal. L'autre, mésodermique, occupe tout le territoire hépatique présomptif c'est-à-dire le repli cardiaque et les aires latérales (fig. 23). Cette ébauche mésodermique fournit le mésenchyme hépatique.

6° Un obstacle transversal allant de l'axe somitique à l'aire opaque empêche la colonisation du mésenchyme hépatique par les cordons épithéliaux du foie. Ainsi le mésoderme de l'aire hépatique peut être expérimentalement isolé et se développer indépendamment de la composante endodermique du foie (fig. 20 à 22).

7° Lorsqu'une partie de l'ébauche mésodermique du foie est détruite par les rayons X ou isolée en arrière d'un obstacle transversal, le volume du foie qui se forme au cours des premiers jours de l'incubation dépend de la quantité de mésenchyme hépatique laissée à la disposition des cordons épithéliaux. Ce n'est qu'à un stade avancé du développement que la partie du foie respectée par l'intervention est le siège d'une hypertrophie compensatrice.

8° L'endoderme présomptif du foie prélevé au stade de la formation du premier bourgeon hépatique (stade de 21 somites), ne peut poursuivre son évolution s'il est isolé en culture organotypique ou en greffe cœlomique. Par contre, il fournit des cordons de cellules hépatiques s'il est associé *in ovo* (fig. 24) ou *in vitro* au mésenchyme propre du foie. Associé en culture organotypique à du mésenchyme hépatique provenant d'embryons de 5 à 7 jours d'incubation, il prolifère et se différencie en hépato-

cytes capables d'accumuler du glycogène. L'ébauche mésenchymateuse du foie exerce donc sur l'endoderme des bourgeons hépatiques une action inductrice nécessaire à la poursuite de leur évolution.

9° L'isolement expérimental du mésenchyme hépatique permet d'étudier sa structure lorsqu'il est dépourvu des cordons de cellules hépatiques. Il est constitué de travées mésenchymateuses séparées par des espaces sanguins identiques aux sinusoides hépatiques. L'association de ce mésenchyme avec l'endoderme hépatique par le moyen de greffes montre que la croissance des cordons de cellules hépatiques est guidée par les travées mésenchymateuses. Sous l'influence des cordons hépatiques, les cellules mésenchymateuses sont repoussées à la périphérie et sont vraisemblablement incorporées à la rangée des cellules bordantes des sinusoides. Ces dernières dérivent donc, au moins en partie, d'éléments de l'ébauche mésenchymateuse hépatique.

10° Des mésenchymes hétérologues peuvent induire, bien que dans une moindre mesure, la prolifération et la différenciation des cellules de l'ébauche endodermique du foie. C'est le cas des mésenchymes de la paroi de l'intestin grêle, du cloaque, du mésentère, du poumon et de la paroi externe du sac coelomique. Ces tissus, qui sont des dérivés mésentériques ou péritonéaux, possèdent une parenté embryologique avec le mésenchyme hépatique qui est constitué par le *septum transversum* et ses prolongements postérieurs.

L'action inductrice du mésenchyme hépatique sur l'endoderme n'est donc pas strictement spécifique. Cependant certains mésenchymes sont tout à fait défavorables à l'évolution de l'endoderme hépatique. A leur contact ce dernier survit mais ne fournit qu'une petite vésicule épithéliale ne présentant pas de différenciation glandulaire (mésenchymes somitique, céphalique et du bourgeon de membre par exemple (fig. 33 à 36)).

11° L'action morphogène du mésenchyme hépatique ne peut pas s'exercer sur un fragment d'endoderme digestif quelconque. Elle n'est efficace que sur l'endoderme de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal qui est déjà déterminé à un stade précoce (stade de 5 somites).

12° Aux stades du prolongement céphalique et de la formation des premiers somites les aires hépatiques et cardiaques sont confondues. Avant le stade de 5 somites, l'endoderme de l'aire présomptive du foie n'est pas capable de se différencier en hépatocytes lorsqu'il est associé au mésenchyme hépatique : il n'est pas encore déterminé. Je l'ai appelé pour cette raison *endoderme pré-hépatique*. Par contre, en présence du mésoderme de l'aire cardiaque, cet endoderme se différencie en foie (fig. 61 à 64).

Le mésoderme de l'aire cardiaque est donc responsable de la détermination de l'endoderme hépatique. Cette première action inductrice — *induction primaire* — est indispensable à la poursuite de l'organogenèse hépatique. En effet, l'endoderme ainsi déterminé devient apte à subir l'action morphogène ou *induction secondaire* exercée par le mésenchyme propre du foie et poursuit alors sa différenciation.

13° Le mésoderme de l'aire cardiaque participe à la formation du mésenchyme hépatique au niveau du *septum transversum*. Ce mésoderme joue donc à deux reprises un rôle décisif dans la différenciation de l'endoderme en hépatocytes.

14° Au cours de l'induction primaire du foie, les deux tissus du système inducteur sont spécifiques : seul le mésoderme de l'aire cardiaque peut assurer l'induction et seul l'endoderme pré-hépatique est apte à la subir. Au stade de 5 somites, l'endoderme de la lèvre antérieure de l'ombilic intestinal est capable de fournir du foie. En arrière du repli cardiaque, l'endoderme des aires embryonnaires latérales n'est pas compétent (fig. 71).

*Laboratoire d'Embryologie Expérimentale
du Collège de France et du C. N. R. S.,*

49 bis, avenue de la Belle-Gabrielle,
Nogent-sur-Marne (Seine)

Directeur : Professeur ET. WOLFF.

BIBLIOGRAPHIE

- ADELMANN (H. B.). — 1922. — The significance of the prechordal plate : an interpretative study. *Amer. J. Anat.*, **31**, p. 55-101.
- ALESCIO (T.) et CASSINI (A.). — 1962 a. — L'interazione epithelio-mesenchimale nell'organogenesi del polmone embrionale di topo coltivato *in vitro*. *Zeitschr. Anat. Entwickl.*, **123**, p. 369-396.
- ALESCIO (T.) et CASSINI (A.). — 1962 b. — L'azione indutiva del mesenchima sullo sviluppo *in vitro* dell'albero polmonare del topo. *Atti Soc. ital. Anat.*, suppl. **70**.
- ALLENSPACH (A. L.). — 1964. — Experimental analysis of closure and reopening of the esophagus in the developing chick. *J. Morph.*, **114**, p. 287-302.
- ANCEL (P.) et WOLFF (Et.). — 1934. — Sur une méthode tératogénique directe. *C. R. Acad. Sc.*, **199**, p. 1071.
- AUERBACH (R.). — 1960. — Morphogenetic interactions in the development of the mouse thymus gland. *Developm. Biol.*, **2**, p. 271-284.
- AUERBACH (R.) et GROBSTEIN (C.). — 1958. — Inductive interaction of embryonic tissues after dissociation and reaggregation. *Exp. Cell Res.*, **15**, p. 384-397.
- BEALE (L. S.). — 1856. — Lectures on the minute anatomy of the liver. *Med. Times and Gaz.*, **12**, p. 455-468.
- BELLAIRS (R.). — 1953 a. — Studies on the development of the foregut in the chick blastoderm. 1. The presumptive foregut area. *J. Embryol. exp. Morph.*, **1**, p. 115-124.
- BELLAIRS (R.). — 1953 b. — Studies on the development of the foregut in the chick blastoderm. 2. The morphogenetic movements. *J. Embryol. exp. Morph.*, **1**, p. 369-385.
- BORN (G.). — 1888. — Noch einmal die Plattenmodellirmethode. *Zeitschr. f. wissenschaft. Mikrosk.*, **5**, p. 433-455.
- BORN (G.). — 1889. — Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Säugetierherzens. *Arch. mikr. Anat.*, **33**, p. 284-378.
- BROUHA (M.). — 1898 a. — Sur les premières phases du développement du foie et sur l'évolution des pancréas ventraux, chez les Oiseaux. *Anat. Anz.*, **14**, p. 234-242.
- BROUHA (M.). — 1898 b. — Recherches sur le développement du foie, du pancréas, de la cloison mésentérique et des cavités hépato-entériques chez les Oiseaux. *J. Anat. Physiol.*, **34**, p. 305-363.
- BUTLER (E.). — 1935. — The developmental capacity of regions of unincubated chick blastoderm as tested in chorio-allantoic grafts. *J. exp. Zool.*, **70**, p. 357-389.

- CADIAT (L. O.). — 1878. — Sur l'époque de formation du cloaque chez l'embryon du Poulet. *C. R. Acad. Sc.*, **86**, p. 836-838.
- CALAME (S.). — 1961. — Le rôle des composants épithélial et mésenchymateux du métanéphros, d'après les résultats de la culture *in vitro*. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **50**, p. 299-308.
- CALAYAT (G.). — 1962. — De quelques aspects graphiques des variations enzymatiques dans le *septum transversum* et dans les formations hépatiques au cours des premières heures du développement de l'embryon de Poulet. *C. R. Soc. Biol.*, **156**, p. 1313-1316.
- CHORONSHITZKY (B.). — 1900. — Die Entstehung der Milz, Leber, Gallenblase, Bauchspeicheldrüse und des Pfortadersystems bei den verschiedenen Abteilungen der Wirbeltiere. *Anat. Hefte*, Abt. 1, **13**, p. 363-623.
- DALTON (A. J.). — 1935. — The potencies of portions of young chick blastoderms as tested in chorio-allantoic grafts. *J. exp. Zool.*, **71**, p. 17-52.
- DAMERON (F.). — 1961. — Influence de divers mésenchymes sur la différenciation de l'épithélium pulmonaire de l'embryon de Poulet en culture *in vitro*. *J. Embryol. exp. Morph.*, **9**, p. 628-633.
- DAMERON (F.). — 1962. — Rôle du mésenchyme dans la différenciation de l'ébauche épithéliale du poumon embryonnaire de Poulet en culture *in vitro*. *Path. Biol.*, **10**, p. 811-816.
- DE HAAN (R. L.). — 1963. — Migration patterns of the precardiac mesoderm in the early chick embryo. *Exp. Cell Res.*, **29**, p. 544-560.
- DUVAL (M.). — 1877. — Étude sur l'origine de l'allantoïde chez le Poulet. *Rev. Sc. Nat. Paris*, **6**, p. 149-170.
- DUVAL (M.). — 1889. — *Atlas d'embryologie*. G. Masson éd., Paris.
- ELIAS (H.). — 1955 a. — Origin and early development of the liver in various Vertebrates. *Acta Hepatol.*, **3**, p. 40-56.
- ELIAS (H.). — 1955 b. — The early embryology of the liver of Vertebrates. *Anat. Anz.*, **101**, p. 153-167.
- FAWCETT (D. W.). — 1955. — Observations on the cytology and electron microscopy of hepatic cells. *J. Nat. Canc. Inst.*, **15**, suppl., p. 1475-1503.
- FELIX (W.). — 1892. — Zur Leber und Pankreasentwicklung. *Arch. Anat. Entwickl.*, Jahrgang 1892, p. 281-323.
- FORSSENER (H.). — 1907. — Die angeborenen Darm und ösophagusatresien. Eine entwicklungsgeschichtliche und pathologisch-anatomische Studie. *Anat. Hefte*, Abt. 1, **34**, p. 1-163.
- FRAZER (J. E.). — 1916. — On the development of the structures associated with the roof of the primitive mouth. Hunterian Lecture. *The Lancet*, **2**, p. 45-53.
- FROBEN (F.). — 1892. — Zur Entwicklung der Vogelleber. *Anat. Hefte*, Abt. 1, **1**, p. 365-374.
- FUNCIUS (Th.). — 1909. — Der Prothorax der Vögel und Säuger. *Morph. Jahrb.*, **39**, p. 370-445.
- GAERTNER (R. A.). — 1949. — Development of the posterior trunk and tail of the chick embryo. *J. exp. Zool.*, **111**, p. 157-174.
- GASSER (E.). — 1874. — *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Allantois, der Müller'schen Gänge und des Afters*. Christian Winter, Frankfurt, 75 p.
- GASSER (E.). — 1880. — Die Entstehung der Cloakenöffnung bei Hühnerembryonen. *Arch. Anat. Entwickl.*, Jahrgang 1880, p. 297-319.
- GERLACH (J.). — 1849. — *Beiträge zur Strukturlehre der Leber*. E. Janitsch, Mainz.
- GOETTE (A. W.). — 1867. — *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Darmcanals im Hühnchen*. H. Laupp, Tübingen, 82 p.
- GOLOSOW (N.) et GROBSTEIN (C.). — 1962. — Epitheliomesenchymal interaction in pancreatic morphogenesis. *Developm. Biol.*, **4**, p. 242-255.
- GOMOT (L.). — 1958. — Interaction ectoderme-mésoderme dans la formation des invaginations uropygienne des Oiseaux. *J. Embryol. exp. Morph.*, **6**, p. 162-170.
- GRÄPER (L.). — 1907. — Untersuchung über die Herzbildungen der Vögel. *Arch. f. Entwickl.*, **24**, p. 375-410.
- GRÄPER (L.). — 1929. — Die Primitiventwicklung des Hühnchens nach stereokinematographischen Untersuchungen, kontrolliert durch vitale Farbmarmierung und verglichen mit der Entwicklung anderer Wirbeltiere. *Roux' Arch. Entwickl.*, **116**, p. 382-429.
- GROBSTEIN (C.). — 1953 a. — Inductive epithelio-mesenchymal interaction in cultured organ rudiments of the mouse. *Science*, **118**, p. 52-55.

- GROBSTEIN (C.). — 1953 *b*. — Epithelio-mesenchymal specificity in the morphogenesis of mouse sub-mandibular rudiments *in vitro*. *J. exp. Zool.*, **124**, 383-413.
- GROBSTEIN (C.). — 1955 *a*. — Inductive interaction in the development of the mouse metanephros. *J. exp. Zool.*, **130**, p. 319-340.
- GROBSTEIN (C.). — 1955 *b*. — Tissue interaction in the morphogenesis of mouse embryonic rudiments *in vitro*. *Aspects of Synthesis and Order in Growth*. Princeton Univ. Press, p. 233-256.
- GROBSTEIN (C.). — 1956. — Transfilter induction in mouse metanephrogenic mesenchyme. *Exp. Cell Res.*, **10**, p. 424-440.
- GROBSTEIN (C.). — 1957. — Some transmission characteristics of the tubule inducing influence of mouse metanephrogenic mesenchyme. *Exp. Cell Res.*, **13**, p. 575-587.
- GROBSTEIN (C.). — 1964. — Cytodifferentiation and its controls. *Science*, **143**, p. 643-650.
- GROBSTEIN (C.) et DALTON (A. J.). — 1957. — Kidney tubule induction in mouse metanephrogenic mesenchyme without cytoplasmic contact. *J. exp. Zool.*, **135**, p. 57-73.
- GRUENWALD (P.). — 1941. — Normal and abnormal detachment of the body and gut from the blastoderm in the chick embryo, with remarks on the early development of the allantois. *J. Morph.*, **69**, p. 83-125.
- HAFF (R.). — 1914. — Bindegewebs- und Blutbildungsprozesse in der embryonalen Leber des Huhns. *Arch. f. mikrosk. Anat.*, **84**, p. 321-350.
- HAMBURGER (V.) et HAMILTON (H. L.). — 1951. — A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morph.*, **88**, p. 49-92.
- HAMMAR (J. A. H.). — 1893. — Einige Plattenmodelle zur Beleuchtung der früheren embryonalen Leberentwicklung. *Arch. Anat. Entwickl.*, Jahrgang 1893, p. 123-156.
- HAMMAR (J. A. H.). — 1897. — Ueber einige Hauptzüge der ersten embryonalen Leberentwicklung. *Anat. Anz.*, **13**, p. 233-247.
- HAMMOND (W. S.). — 1939. — On the origin of the cells lining the liver sinusoids in the cat and the rat. *Amer. J. Anat.*, **65**, p. 199-227.
- HAMPÉ (A.). — 1956. — Influence de la calotte épidermique du bourgeon de patte de Poulet sur la formation d'articles distaux. *C. R. Soc. Biol.*, **150**, p. 1671-1673.
- HAMPÉ (A.). — 1959. — Contribution à l'étude du développement et de la régulation des déficiences et des excédents dans la patte de l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **48**, p. 345-478.
- HILDEBRANDT (W.). — 1902. — Die erste Leberentwicklung beim Vögel. *Anat. Hefte*, Abt., **1**, **20**, p. 73-120.
- HIS (W.). — 1868. — *Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbeltierleibes. Die erste Entwicklung des Hühnchens im Ei*. F. C. W. Vogel, Leipzig, 237 p.
- HIS (W.). — 1874. — *Unsere Körperform und das physiologische Problem ihrer Entstehung*. Leipzig.
- HOCHSTETTER (F.). — 1888. — Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Venensystem der Amnioten. I. Hühnchen. *Morph. Jahrbuch*, **13**, p. 575-585.
- HUBER (W.). — 1957. — Analyse expérimentale des facteurs topogénétiques qui régissent la formation de l'encéphale et de la tête chez l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **46**, p. 325-405.
- HUNT (T. E.). — 1931. — An experimental study of the independent differentiation of the isolated Hensen's node and its relation to the formation of axial or non axial parts in the chick embryo. *J. exp. Zool.*, **59**, p. 395-427.
- HUNT (T. E.). — 1932. — Potencies of transverse levels of the chick blastoderm in the definitive streak stage. *Anat. Rec.*, **55**, p. 41-69.
- HUNT (T. E.). — 1934. — The differentiation in chorio-allantoic grafts of gut and liver from the mesectoderm of early chick blastoderms. *Anat. Rec.* (suppl.), **58**, p. 21.
- HUNT (T. E.). — 1937 *a*. — The development of gut and its derivatives from the mesectoderm and mesentoderm of early chick blastoderm. *Anat. Rec.*, **68**, p. 349-370.
- HUNT (T. E.). — 1937 *b*. — The origin of the endodermal cells from the primitive streak of the chick embryo. *Anat. Rec.*, **68**, p. 449-457.
- KEIBEL (F.). — 1901. — Entwicklung von *Melopsittacus undulatus*. *C. R. Assoc. Anat.*, **3**, p. 29-32.
- KEIBEL (F.) et ABRAHAM (K.). — 1900. — *Normentafeln zur Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere*. II. Normentafel zur Entwicklungsgeschichte des Huhnes (*Gallus gallus*). Fischer, Jena, 132 p.

- KERSTEN (A.). — 1912. — Die Entwicklung der Blinddarm bei *Gallus domesticus* unter Berücksichtigung der Ausbildung des gesamten Darmkanals. *Arch. mikroskop. Anat. Entwickl.*, **79**, p. 114-175.
- KIENY (M.). — 1960. — Rôle inducteur du mésoderme dans la différenciation précoce du bourgeon de membre chez l'embryon de Poulet. *J. Embryol. exp. Morph.*, **8**, p. 457-467.
- KINGSBURY (J. W.), ALEXANDERSON (M.) et KORNSTEIN (E. S.). — 1956. — The development of the liver in the chick. *Anat. Rec.*, **124**, p. 165-187.
- KÖLLIKER (A. VON). — 1879. — *Die Entwicklungsgeschichte des Menschen und der höheren Wirbelthiere*. W. Engelmann, Leipzig, 1033 p.
- LE DOUARIN (N.). — 1960. — Sur les résultats d'expériences de radiodestructions transversales pratiquées chez l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sc.*, **250**, p. 2064-2066.
- LE DOUARIN (N.). — 1961 a. — Malformations cardio-vasculaires provoquées chez le Poulet par l'irradiation aux rayons X du territoire embryonnaire situé en arrière de l'ébauche du cœur. *C. R. Soc. Biol.*, **155**, p. 61-64.
- LE DOUARIN (N.). — 1961 b. — Perturbations indirectes de l'organogenèse cardio-vasculaire obtenues par la destruction aux rayons X de territoires situés en arrière de l'ébauche du cœur. *J. Embryol. exp. Morph.*, **9**, p. 446-455.
- LE DOUARIN (N.). — 1961 c. — Radiodestructions partielles chez l'embryon de Poulet aux jeunes stades et localisation des ébauches digestives. *J. Embryol. exp. Morph.*, **9**, p. 1-8.
- LE DOUARIN (N.). — 1962 a. — Les déplacements de l'endoderme au cours de l'organogenèse digestive chez l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sc.*, **254**, p. 2075-2077.
- LE DOUARIN (N.). — 1962 b. — Données expérimentales sur l'organogenèse hépatique chez l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sc.*, **255**, p. 769-772.
- LE DOUARIN (N.). — 1963 a. — Rôle du mésenchyme dans l'histogenèse hépatique chez l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sc.*, **257**, p. 255-257.
- LE DOUARIN (N.). — 1963 b. — Action inductrice précoce du mésoderme de l'aire cardiaque sur l'endoderme hépatique de l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sc.*, **257**, p. 1357-1360.
- LE DOUARIN (N.). — 1963 c. — *Données sur l'hépatogenèse chez l'embryon de Poulet*. 88^e Congrès des Sociétés Savantes, Clermont-Ferrand, 1963, (II), 625-634.
- LE DOUARIN (N.). — 1964 a. — Isolement expérimental du mésenchyme propre du foie et rôle morphogène de la composante mésodermique dans l'organogenèse hépatique. *J. Embryol. exp. Morph.*, **12**, p. 141-160.
- LE DOUARIN (N.). — 1964 b. — Induction de l'endoderme pré-hépatique par le mésoderme de l'aire cardiaque chez l'embryon de Poulet. *J. Embryol. exp. Morph.*, **12**, p. 651-664.
- LENDER (Th.). — 1960. — L'inhibition spécifique de la différenciation du cerveau des Planaires d'eau douce en régénération. *J. Embryol. exp. Morph.*, **8**, p. 291-301.
- LENIQUE (P.). — 1959. — Studies on homologous inhibition in the chick embryo. *Acta Zool.*, **40**, p. 141-202.
- LILLIE (F. R.). — 1952. — *Development of the chick*. Third Edit. by H. L. Hamilton, New York.
- LIPP (W.). — 1952 a. — Die frühe Entwicklung der Architektur des Leberparenchyms beim Meerschweinchen. *Z. f. mikrosk. Anat. Forschung*, **58**, p. 289-319.
- LIPP (W.). — 1952 b. — Die Entwicklung der Parenchymarchitektur der Leber. *Verh. Anat. Ges.*, **50**, Vers. Marburg, p. 241-249, Fischer, Jena.
- LUDWIG (E.). — 1919. — Zur Entwicklungsgeschichte der Leber, des Pankreas und des Vorderdarms bei der Ente und beim Maulwurf. *Anat. Hefte*, Abt. 1, **56**, p. 515-593.
- LUTZ (H.). — 1954. — Données nouvelles sur la formation de l'endoblaste chez l'embryon de Canard, d'après les marques à l'encre de Chine. *C. R. Acad. Sc.*, **238**, p. 2454-2456.
- LUTZ (H.). — 1955. — Contribution expérimentale à l'étude de la formation de l'endoblaste chez les Oiseaux. *J. Embryol. exp. Morph.*, **3**, p. 59-76.
- LUTZ (H.) et GOMOT (L.). — 1956. — Action de l'organisateur de la glande uropygienne des Oiseaux sur l'ectoderme. *C. R. Soc. Biol.*, **150**, p. 2055-2056.
- MAUMUS (J.). — 1902. — Les carcums des Oiseaux. *Ann. Sci. nat., Zool.*, Ser. 8, **15**, p. 1-148.
- MCCLELLURE (C. F. W.). — 1921. — The endothelial problem. *Anat. Rec.*, **22**, p. 219-237.

- MEURON (P. DE). — 1886. — Sur le développement de l'œsophage. *C. R. Acad. Sc.*, **102**, p. 1401-1403.
- MINOT (C. S.). — 1900 a. — On the solid stage of the large intestine in the chick. *J. Bos. Soc. Med. Sc.*, **4**, p. 153-164.
- MINOT (C. S.). — 1900 b. — On a hitherto unrecognized form of blood circulation without capillaries in the organs of Vertebrata. *Proc. Bos. Soc. Nat. Hist.*, **29**, p. 185-215.
- MOLLIER (S.). — 1909. — Die Blutbildung in der embryonalen Leber des Menschen und der Säugetiere. *Arch. f. mikr. Anat.*, **74**, p. 474-524.
- MOSCONA (A.). — 1952. — Cell suspensions from organ rudiments of chick embryos. *Exp. Cell Res.*, **3**, p. 535-539.
- MOSCONA (A.) et MOSCONA (H.). — 1952. — The dissociation and aggregation of cells from organ rudiments of the early chick embryo. *J. Anat.*, **86**, p. 287-301.
- NEUMANN (E.). — 1914. — Neuer Beitrag zur Kenntnis der embryonalen Leber. *Arch. f. mikr. Anat.*, **85**, p. 480-520.
- PARKS (H. F.). — 1956. — The hepatic sinusoidal endothelial cell and its histological relationships. *Electron. Microsc. Proc. Stockholm, Conf.*, New York Ac. Press, p. 151-153.
- PASTEELS (J.). — 1937. — Études sur la gastrulation des Vertébrés méroblastiques. III. Oiseaux. *Arch. Biol.*, **43**, p. 381-463.
- PENSA (A.). — 1910. — Osservazioni sullo sviluppo dell'esofago nell'uomo e in altri vertebrati. *Anat. Anz.*, **36**, p. 299-314.
- PFLÜGER (E.). — 1869. — Ueber die Abhängigkeit der Leber von dem Nervensystem. *Pflüger's Arch. ges. Physiol.*, **2**, p. 459-491.
- POPPER (H.) et SCHAFFNER (F.). — 1957. — *Liver : structure and function*. The Blackston Division. New York, Toronto, London, McGraw-Hill Book Co.
- RAWLES (M. E.). — 1936. — A study in the localization of organforming areas in the chick blastoderm of the head-process stage. *J. exp. Zool.*, **72**, p. 271-315.
- REAGAN (F. P.). — 1917. — Experimental studies on the origin of vascular endothelium and of erythrocytes. *Amer. J. Anat.*, **21**, p. 39-175.
- ROBINSON (A.). — 1903. — The early stages of the development of the pericardium. *J. Anat. Physiol.*, **37**, p. 1-17.
- ROSE (S. M.). — 1952. — A hierarchy of self-limiting reactions as the basis of cellular differentiation and growth control. *Amer. Natur.*, **86**, p. 337-354.
- ROSE (S. M.). — 1952. — The specific suppression of the embryonic differentiation in *Rana pipiens* by adult tissues. *Anat. Rec.*, **113**, p. 527.
- ROSE (S. M.). — 1957. — Cellular interaction during differentiation. *Biol. Rev.*, **32**, p. 351-382.
- ROUILLER (Ch.) et JÉZÉQUEL (A. M.). — 1963. — Electron microscopy of the liver. In *The Liver*, vol. I, Academic Press, New York, p. 195-264.
- RUDNICK (D.). — 1932. — Thyroid-forming potencies of the early chick blastoderm. *J. exp. Zool.*, **62**, p. 287-317.
- RUDNICK (D.). — 1938. — Differentiation in culture of pieces of the early chick blastoderm. II. Short primitive streak stages. *J. exp. Zool.*, **79**, p. 399-425.
- RUDNICK (D.). — 1944. — Early history and mechanics of the chick blastoderm. *Quart. Rev. Biol.*, **19**, p. 187-212.
- RUDNICK (D.). — 1952. — Development of the digestive tube and its derivatives. *Ann. N. Y. Acad. Sc.*, **55**, p. 109-116.
- RUDNICK (D.) et RAWLES (M. E.). — 1937. — Differentiation of the gut in chorio-allantoic grafts from chick blastoderms. *Physiol. Zool.*, **10**, p. 381-395.
- SAUNDERS (J. W.), CAIRNS (J. M.) et GASSELING (M. T.). — 1957. — The role of the apical ridge of ectoderm in the differentiation of the morphological structure and inductive specificity of limb parts in the chick. *J. Morph.*, **101**, p. 57-87.
- SCHUMACHER (S.). — 1926. — Die Entwicklung der Glandulae œsophageae des Huhnes. *Z. f. mikrosk. Anat. Forschung*, **5**, p. 1-22.
- SENGEL (Ph.). — 1958. — Recherches expérimentales sur la différenciation des germes plumaires et du pigment de la peau de l'embryon de Poulet en culture *in vitro*. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, **20**, p. 431-514.
- SHORE (Th. W.). — 1891. — Notes on the origin of the liver. *J. Anat. Physiol.*, **25**, p. 166-197.
- SIGOT (M.). — 1962. — Sur le rôle du mésenchyme dans la différenciation des glandes du proventricule chez le Poulet. *C. R. Acad. Sc.*, **254**, p. 2439-2441.

- SORENSEN (G. D.). — 1960. — An electron microscopic study of hematopoiesis in the fetal rabbit. *Amer. J. Anat.*, **106**, p. 27-40.
- SPRATT (N. T.). — 1952. — Localization of prospective neural plate in the early chick blastoderm. *J. exp. Zool.*, **120**, p. 109-130.
- TROTTI (L.). — 1932. — Contributo alla conoscenza delle condizioni embrionali dell'esofago negli uccelli. *Boll. Mus. Zool. Anat. comp. Genova*, **12**, p. 1-23.
- USKOW (N.). — 1883. — Ueber die Entwicklung des Zwerchfells, des Pericardiums und des Coeloms. *Arch. f. mikrosk. Anat.*, **22**, p. 143-219.
- VEROCAY (A.). — 1905. — Multiplicitas cordis (heptacardia) bei einem Huhn. *Verhandl. Deutschen pathol. Ges.*, **16**, p. 192-198.
- WADDINGTON (C. H.). — 1932. — Experiments on the development of chick and duck embryos cultivated *in vitro*. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, S. B., **221**, p. 179-230.
- WARYNSKI (M. S.). — 1884. — Recherches expérimentales sur le mode de formation des Omphalocéphales. *Rec. Zool. Suisse*, **1**, p. 291-301.
- WARYNSKI (M. S.) et FOL (M. H.). — 1884. — Recherches expérimentales sur la cause de quelques monstruosités simples et de divers processus embryogéniques. *Rec. Zool. Suisse*, **1**, p. 1-25.
- WASSERMAN (F.). — 1958. — The structure of the wall of the hepatic sinusoids in the electron microscope. *Z. Zellforsch.*, **49**, p. 13-32.
- WEBER (J. A.). — 1903. — *L'origine des glandes annexes de l'intestin moyen chez les Vertébrés*. Thèse de doctorat en Médecine, Paris.
- WEISS (P.). — 1947. — The problem of specificity in growth and development. *Yale J. Biol. Med.*, **19**, p. 235-278.
- WETZEL (R.). — 1929. — Untersuchungen am Hühnchen. Die Entwicklung des Keims während der ersten beiden Bruttage. *Roux' Arch. Entwickl.*, **119**, p. 188-321.
- WILLIER (B. H.) et RAWLES (M. E.). — 1931. — Developmental relations of the heart and liver in chorio-allantoic grafts of whole chick blastoderms. *Anat. Rec.*, **48**, p. 277-301.
- WOLFF (C. F.). — 1768. — De formatione intestinorum. *Novi commentarii Acad. Sci. imperialis petropolitanae*, **13**, p. 478-530.
- WOLFF (Et.). — 1933 a. — La topographie des ébauches présumptives du foie, d'après l'étude des Poulets omphalocéphales. *C. R. Acad. Sc.*, **196**, p. 431-433.
- WOLFF (Et.). — 1933 b. — Recherches sur la structure d'Omphalocéphales obtenus expérimentalement. *Arch. Anat. Hist. Embryol.*, **16**, p. 135-193.
- WOLFF (Et.). — 1933 c. — Réalisation expérimentale de monstres à cœur double. *C. R. Soc. Biol.*, **112**, p. 1090-1092.
- WOLFF (Et.). — 1936. — Les bases de la tératogénèse expérimentale des Vertébrés amniotes d'après les résultats de méthodes directes. *Arch. Anat. Hist. Embryol.*, **22**, p. 1-382.
- WOLFF (Et.). — 1962. — Recent researches on the regeneration of Planaria. In *Regeneration*, 20th Growth Symposium. The Ronald Press Co., p. 53-84.
- WOLFF (Et.) et HAFFEN (K.). — 1952. — Sur une méthode de culture d'organes embryonnaires *in vitro*. *Texas Rep. Biol. Med.*, **10**, p. 463-472.
- WOLFF (Et.), LENDER (Th.) et ZILLER-SENGEL (C.). — 1964. — Le rôle des facteurs auto-inhibiteurs dans la régénération des Planaires. *Rev. Suisse Zool.*, **71**, p. 75-98.
- WOLFF (Et.) et SIMON (D.). — 1955. — L'explantation et la parabiose *in vitro* de blastoderms incubés d'embryons de Poulet. L'organisation de la circulation extra-embryonnaire. *C. R. Acad. Sc.*, **241**, p. 1994-1996.
- ZWILLING (E.). — 1946. — Regulation in the chick allantois. *J. exp. Zool.*, **101**, p. 445-454.
- ZWILLING (E.). — 1955. — Ectoderm-mesoderm relationship in the development of the chick embryo limb bud. *J. exp. Zool.*, **128**, p. 423-442.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

L'hématopoïèse dans les formes embryonnaires
et jeunes des Vertébrés

VU ET APPROUVÉ .

Paris, le 23 septembre 1964.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

MARC ZAMANSKY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN ROCHE.

